Ueber den Eiweißabbau bei der Autolyse von Gerstenmalz

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

genehmigt von der

Philosophischen Fakultät
der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

vorgelegt von

Rudolf Buse

aus Berlin-Schmargendorf

Tag der mündlichen Prüfung: 20. Juli 1933

Tag der Promotion: 14. Oktober 1933.

Buch- und Kunstdruckerei Wilh. Postberg, Bottrop i.W.

1933

588

Referenten: Prof. Dr. Schlenk

Prof. Dr. Mannig

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern

Inhaltsübersicht.

	Seite
1. Einleitung	1
2. Methodisches	5
3. Einfluß der Maischtemperatur und der Maischdauer auf den Eiweißabbau	21
4. Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf den Eiweißabbau	35
5. Einfluß der Maischekonzentration auf den Eiweißabbau	45
6. Zusammenfassung	51

1. Einleitung.

Bei der Autolyse von Malzmehl tritt zwar der Eiweißabbau mengenmäßig nicht so stark in den Vordergrund wie der Stärkeabbau; aber trotzdem haben die Eiweißabbauprodukte eine große Bedeutung in bezug auf das fertige Bier. Die kolloiden Eiweißabbauprodukte haben Anteil an Schaum, Geschmack und Eiweißtrübung, während die molekularlöslichen zur Hefeernährung dienen. Man hat aus diesem Grunde Interesse daran, die bei verschiedenen Maisch- bzw. Autolysebedingungen entstehenden Eiweißspaltprodukte der Art und Menge nach zu bestimmen.

In der Gerste und im Gerstenmalz unterscheidet man nach *Osborne*[1]) und *Bischop*[2]) folgende echte

Eiweißstoffe:

Leukosin, ein Albumin (löslich in destilliertem Wasser);
Edestin, ein Globulin (löslich in salzhaltigem Wasser);
Hordein, ein Prolamin (löslich in Alkohol);
Glutelin (unlöslich).

Daneben enthält die Gerste und besonders das Malz eine Reihe von Spaltprodukten, die sich in Wasser leicht lösen und beim Kochen nicht koagulieren. Die Menge dieser Spaltprodukte wird durch die Tätigkeit der proteolytischen Enzyme beim Maischen noch ganz beträchtlich vermehrt. Da das eigentliche Eiweiß bei dem in der Praxis der Bierbrauerei üblichen Kochen mit Hopfen fast vollständig ausgefällt wird, sind es gerade die Spaltprodukte, welche in brauwissenschaftlicher und brautechnischer Beziehung von Bedeutung sind.

Der Abbau der Eiweißstoffe wird durch proteolytische Enzyme bedingt. Je nach der Art des Substrates teilt *Waldschmidt-Leitz*[3]) die Proteasen ein in Proteinasen, die höhermolekulare Eiweißstoffe angreifen, und in Peptidasen, die nur Peptide abzubauen vermögen.

Nach den Arbeiten von *Mill* und *Linderström-Lang*[4]), *Lüers* und *Malsch*[5]), *Hopkins*[6]), *Hopkins* und *Burns*[7]) unterscheidet man im Grünmalz eine Proteinase und mehrere (mindestens zwei) Peptidasen. Die Proteinase hat ein p_H-Optimum für Edestin bei 4,3 und für Gelatine bei 4,9—5,0. Das p_H-Optimum ändert sich also mit dem Substrat. Die Peptidasen wirken optimal bei schwach alkalischer Reaktion (p_H = ca. 8,0) und sind bedeutend hitzeempfindlicher als die Proteinase.

---

[1]) Giesmayer, Die Proteine der Getreidearten. 1907.
[2]) Journ. Inst. Brewing 1928, 101.
[3]) Vorträge aus dem Gebiete der Eiweißchemie. Leipzig 1931.
[4]) Compt. rend. du Laboratoire de Carlsberg 17, No. 10 (1929).
[5]) Wochenschr. f. Brauerei 1929, 265.
[6]) Biochem. Journ. 22, 1022 (1929).
[7]) Journ. Inst. Brew. 1930, 9.

Bei der Autolyse werden die Verhältnisse komplizierter liegen, weil die proteolytschen Enzyme zu gleicher Zeit auf mehrere Substrate einwirken. Wenn auch die Peptidasen durch das Darren des Malzes (höchste Darrtemperatur für helles Malz etwa 85°) bedeutend mehr geschädigt werden als die Proteinase, so ist doch im fertigen Malz noch mit einem gewissen Gehalt an Peptidasen zu rechnen, so daß die Proteolyse beim Maischen das Ergebnis der Tätigkeit von Proteinase und Peptidasen darstellt.

Die Untersuchung des beim Maischen vor sich gehenden Eiweißabbaues haben *Windisch, Kolbach* und *Schild*[8]) durchgeführt. Die Autoren stellen fest, daß das Temperaturoptimum der Proteolyse mit der Maischdauer schwankt, und daß es praktisch mit dem Optimum für die Proteinase übereinstimmt. Das p_H-Optimum für den Eiweißabbau bei der Autolyse von Malzmehl ist von der Temperatur abhängig und verschiebt sich mit einem Steigen derselben nach der alkalischen Seite. Eine genaue Besprechung der Ergebnisse folgt weiter unten bei Gelegenheit der Darstellung unserer eigenen Beobachtungen.

Die Differenzierung der durch die Arbeit der Proteasen entstehenden Eiweißabbauprodukte ist schon lange angestrebt worden. Durch die Differenzierung ist es ja auch erst möglich gewesen, Rückschlüsse auf die Art der Enzyme zu ziehen.

Im einfachsten Falle beschränkt man sich auf die Bestimmung des löslichen Gesamt-Stickstoffs, das heißt des Stickstoffs, der insgesamt in Lösung gegangen ist. Man muß aber bedenken, daß das Erfassen nur des löslichen Stickstoffs gerade beim Maischen schlecht vergleichende Beobachtungen zuläßt; denn es wird je nach der Maischdauer ein mehr oder weniger großer Anteil des Eiweißes koaguliert, so daß in der fertigen Würze nicht mehr der gesamte in Lösung gegangene Stickstoff erfaßt wird.

Die Ausschaltung dieses Fehlers gelingt durch die Bestimmung des dauernd löslichen Stickstoffs, das heißt des Stickstoffs, der z. B. nach fünfstündigem Kochen der Würze in einem Kochsalzwasserbad noch vorhanden ist. Die durch die unterschiedliche Koagulation beim Maischen bedingte Ungenauigkeit wird hierdurch beseitigt.

So ist durch die Bestimmung des löslichen, koagulierbaren und dauernd löslichen Stickstoffs ein exakter Ueberblick über den mengenmäßigen Eiweißabbau ermöglicht.

Schjerning[9]) versucht eine artmäßige Unterscheidung der einzelnen Eiweißkörper nach ihrem Verhalten gegenüber Fällungsmitteln. Er unterscheidet die beim Maischen gebildeten Eiweißspaltprodukte auf Grund von Fällungen mit Schwermetallsalzen und gelangt durch Einwirkung von Zinnchlorür, Sublimat, Ferriazetat, Uranylazetat und Magnesiumsulfat zu fünf Niederschlägen, aus denen sich die einzelnen Arten von Abbau-

---

[8]) Wochenschr. f. Brauerei 1931, 253.

[9]) Comt. rend. Lab. Carlsberg 2, 45 (1914).

produkten als Differenz der Fällungen ergeben. Schjerning glaubte mit seiner Methode eine Trennung der Abbauprodukte nach ihrer Molekülgröße erreicht zu haben. Er unterscheidet folgende Abbaustufen: Albumin 1, Albumin 2, Denuklein, Albumosen, Peptone, Amine und Amide, Ammoniak.

Einen anderen Weg zur Differenzierung der Eiweißstoffe gehen *Windisch, Dietrich* und *Mehlitz*[10]), die zur Trennung die Ultrafiltration mit Eisessigkollodiumfiltern anwenden. Die Verfasser zeigen durch ihre Versuche, daß die Schjerningschen Elektrolytfällungen nicht Substanzen bestimmten Dispersitätsgrades erfassen, sondern daß in den Niederschlägen Substanzen verschiedener Dispersitätsgrade vereinigt sind.

In neuerer Zeit unterzieht *Myrbäk*[11]) die Schjerningschen Fällungen einer Kritik und stellt fest, daß, wie wir später genauer ausführen werden, eigentlich nur die Eiweißstoffe, die mit Magnesiumsulfat und Uranylazetat gefällt werden, wohl definierte Fraktionen darstellen.

Die Versuche, die zur Trennung der Stickstoffsubstanzen durch Ultrafiltration von uns ebenfalls durchgeführt werden, zeitigen, wie weiter unten angeführt wird, mangelhafte Ergebnisse, so daß ihre Anwendung nicht ratsam ist.

Wie *Windisch, Kolbach* und *Schild*[12]) zeigen, ist durch die Formoltitration nach Sörensen, in der von Lüers angegebenen Form, auf einfache Weise ein weiterer Einblick in den Eiweißabbau möglich. Da mit Hilfe dieser Titration der Stickstoff der Mono-Aminosäuren quantitativ und derjenige der Polypeptide in um so höherem Maße bestimmbar ist, je kleiner das Polypeptidmolekül, so bildet der gemessene Formol-Stickstoff einer Würze ein Maß für den Gehalt an niedrigmolekularen Spaltprodukten.

In der vorliegenden Arbeit soll nun der Versuch unternommen werden, die Differenzierung der bei der Autolyse unter verschiedenen äußeren Einflüssen (Einfluß der Maischdauer und Maischtemperatur, Einfluß des p_H, Einfluß der Maischkonzentration) entstehenden Eiweißspaltprodukte mit Hilfe von Adsorptions- und Fällungsmitteln zu erreichen, wobei wir bei der Auswahl der Fällungsmittel die kritischen Einwände anderer Autoren gegen die von Schjerning benutzten Reagentien berücksichtigen. Die Bestimmung des löslichen, dauernd löslichen, koagulierbaren und formoltitrierbaren Stickstoffs umfaßt zwar schon alle Spaltprodukte und gestattet auch durch die Formoltitration eine ungefähre Aufteilung in kolloid- und molekularlöslichen Stickstoff, doch können die einzelnen Abbauprodukte durch die eben erwähnten Methoden nicht direkt erfaßt werden.

Man kann sich den Eiweißabbau so vorstellen, daß durch die Einwirkung der Fermente das große Eiweißmolekül allmählich zerkleinert wird und über die kolloidlöslichen Polypeptide (hochmolekular), die molekularlöslichen Polypeptide (niedrigmolekular) zu Aminosäuren abgebaut wird. Die Identifizierung der kolloiden und molekularlöslichen Stickstoffkörper soll durch Adsorptions- und Fällungsmittel wie aktive Kohle, Magnesiumsulfat, Tannin und Uranylazetat geschehen.

---

[10]) Wochenschr. f. Brauerei 1923, 1.
[11]) Wochenschr. f. Brauerei 1931, 43.
[12]) Wochenschr. f. Brauerei 1931, 253.

Das nächstliegende zur Bestimmung des kolloiden Stickstoffs wäre eigentlich die Ultrafiltration; aber diese Methode ist, wie schon einmal gesagt wurde und wie auch im Verlaufe der Arbeit nachgeprüft wird, ziemlich schwer durchführbar und die Reproduzierbarkeit der Resultate nicht befriedigend. Neben der Bestimmung des löslichen, dauernd löslichen, koagulierbaren und formoltitrierbaren Stickstoffs verbleiben wir daher bei der Anwendung der oben erwähnten Adsorptions- und Fällungsmittel zur Durchführung einer Trennung in hoch- und niedrigmolekulare Eiweißstoffe.

Für die einzelnen Spaltprodukte findet man in der Literatur (s. z. B. Schjerning) die verschiedensten Namen wie Albumosen, Peptone etc. Es wird wohl auch mit dem Namen die Vorstellung eines chemischen Individuums verbunden. Doch ist nach den anfangs zitierten Arbeiten von Schjerning, Windisch-Mehlitz und Myrbäk nicht allzuviel Berechtigung dazu vorhanden; denn es besteht die Möglichkeit, daß durch ein und dasselbe Reagens Stoffe von dem verschiedensten chemischen Charakter und Dispersitätsgrad gefällt werden. Es wird deshalb in der vorliegenden Abhandlung der auszufällende Stoff mit dem Namen des Fällungsmittels belegt werden.

Außerdem sei erwähnt, daß mit den Bezeichnungen wie Eiweißstoffe, Eiweißkörper, Stickstoffsubstanzen, Spaltprodukte etc. Eiweißabbauprodukte gemeint sind. Sofern es sich um genuine Eiweißstoffe handelt, wird dieses besonders hervorgehoben.

Die Art der praktischen Durchführung der Eiweißfällungsmethoden erfolgt im Kapitel „Methodisches".

2. *Methodisches.*

Der Gesamt-Stickstoff (Gesamt-N) der Würze wird in der Brauereiliteratur auch als löslicher Stickstoff bezeichnet. Zieht man den koagulierbaren vom löslichen Stickstoff ab, so erhält man den dauernd löslichen Stickstoff, der alle Spaltprodukte der Eiweißstoffe umfaßt. In der ungekochten Würze werden bestimmt der Gesamt-Stickstoff, der Extraktgehalt und das p_H, in der gekochten Würze der Gesamt-Stickstoff, der formoltitrierbare Stickstoff, der Stickstoff, der von Kohle (0,5 g und 4 g pro 100 ccm Würze) adsorbiert wird, der Stickstoff, der mit Magnesiumsulfat ausgesalzen wird, und schließlich der mit Tannin und Uranylazetat ausfällbare.

Die hier angewandte Methodik des Maischens sowie die der darauf folgenden Bestimmungsarten soll im folgenden erläutert werden.

Das Maischen.

Je 75 g Malzmehl (helles Hochschulmalz) und 300 ccm destilliertes Wasser werden durch ½stündiges Verweilen im Maischbad getrennt auf die Versuchstemperatur gebracht, in einem 600 ccm fassenden Becherglas vermischt und je nach der Versuchsdauer die dafür bestimmte Zeit mit Glasrührer gemaischt. 5 Minuten vor Beendigung der genau mit dem Sekundenzeiger einer Uhr abzupassenden Maischzeit werden 100 ccm Wasser von Versuchstemperatur zugegeben, zu Ende gemaischt, 8 Minuten abgekühlt, auf 500 g aufgewogen und filtriert. Obwohl die eigentliche Dauer der Filtration im Durchschnitt nur eine Stunde beträgt, wird jedoch, da einzelne Filtrationen länger dauerten, bis zur Entnahme der Proben zur Untersuchung generell 1¾ Stunde gewartet.

Bestimmung des löslichen Stickstoffs.

Es werden der nach dem Filtrieren der Maische erhaltenen Würze 10 ccm entnommen, und der darin enthaltene Stickstoff nach Kjeldahl, wie folgt, bestimmt. 10 ccm Würze werden mit einem Löffel Kaliumsulfat, 1 ccm Kupfersulfat (1 g in 100 ccm) und 20 ccm conc. Schwefelsäure versetzt und verbrannt. Nach dem Grünwerden des Kolbeninhaltes läßt man noch ¼ Stunde langsam sieden und dann abkühlen. Das Ammoniak wird nach dem Verdünnen mit 150 ccm destilliertem Wasser und Zusatz von 70 ccm ca. 35%iger Natronlauge in vorgelegte n/20 Schwefelsäure destilliert.

Bestimmung des dauernd löslichen Stickstoffs.

Die Würze wird 5 Stunden am Rückflußkühler im Kochsalzwasserbad (Siedepunkt = 108,8 °) kochen gelassen und nach dem Abkühlen filtriert. Im Filtrat wird nach der gleichen Arbeitsweise wie beim löslichen Stickstoff der dauernd lösliche Stickstoff bestimmt.

Bestimmung des koagulierbaren Stickstoffs.

Das ausgefällte Eiweiß beziehungsweise der koagulierbare Stickstoff ergibt sich als Differenz zwischen dem löslichen und dauernd löslichen Stickstoff.

Bestimmung des formoltitrierbaren Stickstoffs.

Die Formoltitration, die, wie schon in der Einleitung erwähnt, zur quantitativen Erfassung der Aminosäuren (mono) und zur teilweisen Bestimmung der Polypeptide dient, wird ebenfalls im Filtrat der 5 Stunden gekochten Würze ausgeführt. Das wesentliche dieser Titration liegt darin, daß man nach Absättigen der Aminogruppe mit Formaldehyd, wobei nach folgendem Schema

$$\begin{array}{l} CH_2-NH_2 \\ | \\ CooH \end{array} + OCH_2 \longrightarrow \begin{array}{l} CH_2N=CH_2 \\ | \\ COOH \end{array} + H_2O$$

Schiffsche Basen entstehen, die frei gewordenen COOH-Gruppen titrieren kann.

Beschreibung der Titration:

Die Würze wird mit Natronlauge versetzt, sodaß sie gegen Phenolphtalein alkalisch reagiert und die in der Würze enthaltenen Phosphate und Karbonate durch Zugabe von Bariumchlorid gefällt. Nach dem Abfiltrieren des Niederschlages wird zuerst gegen eine Neutralrotvergleichslösung, die Phosphatpuffer vom $p_H = 7{,}07$ enthält, titriert und dadurch alle anderen Säuren außer den Aminosäuren gebunden. Vertauscht man jetzt die Neutralrotvergleichslösung mit einer Phenolphtaleinvergleichslösung ($p_H = 9{,}00$), so kann man nach dem Abbinden der Aminogruppe mit Formaldehyd die COOH-Gruppe der Aminosäuren, beziehungsweise die der Peptide, durch Zugabe von n/10 kohlensäurefreier Natronlauge volumetrisch bestimmen. Da jeder COOH-Gruppe eine NH_2-Gruppe zugeordnet ist, so läßt sich der Gehalt an Aminostickstoff leicht errechnen. Einem ccm n/10 Lauge entspricht 1,4 mg Aminostickstoff.

Die Fällungen mit Magnesiumsulfat, Tannin und Uranylazetat.

Alle drei Fällungen sind aus anderen Arbeiten entnommen und werden bei den verschiedenen Versuchsreihen von uns zur Anwendung gebracht.

Die Fällung mit Magnesiumsulfat[13]), die bereits von anderen Autoren benutzt wurde, ist nach Vorversuchen von uns etwas geändert worden und wird folgendermaßen ausgeführt:

40 ccm Würze werden mit 0,65 ccm 5n Schwefelsäure und 40 g $MgSO_4 \cdot 7aq$ versetzt, ¼ Stunde im Wasserbad von 35° angewärmt, dann ¼ Stunde und schließlich noch ½ Stunde alle 10 Minuten gerührt. Nachdem so durch die 1stündige Reaktion das Eiweiß gut gefällt ist, wird durch ein 11-cm-Schwarzbandfilter filtriert. Um ein quantitatives Ueberbringen des Niederschlages auf das Filter und um andererseits ein gutes Aus-

[13]) Zeitschr. f. analytische Chemie 37, 413 (1898) und Wochenschr. f. Brauerei 1923, 1.

waschen des mit Magnesiumsulfat gefällten Eiweißes zu ermöglichen, wird das Becherglas 4 mal mit je 10 ccm angesäuerter Magnesiumsulfatlösung nachgespült und dadurch der Rest des noch an den Wandungen des Becherglases hängenden Niederschlages auf das Filter gebracht. Die vielleicht noch im Filter vorhandene Würze wird durch Aufgeben von 3 mal je 10 ccm der Waschflüssigkeit ebenfalls entfernt.

Die angesäuerte Waschflüssigkeit wird so hergestellt, daß 354 g $MgSO_4 \cdot 7$ aq (= 173 g $MgSO_4$ anhydr.) mit 500 ccm Wasser aufgekocht, abgekühlt und filtriert werden. Die Säuerung geschieht so, daß die darin enthaltene Schwefelsäure einem Gehalt von 0,66 ccm conc. Schwefelsäure in 1000 ccm Lösung entspricht ($p_H = 1{,}6$).

Die Bestimmung des gefällten Stickstoffs erfolgt durch direktes Verbrennen des Niederschlages mit Filter.

Es ist noch zu erwähnen, daß die Bezeichnung Fällung bei dieser Methode nicht ganz richtig ist; denn es findet ja kein chemischer, sondern ein physiko-chemischer Vorgang statt. Das Eiweiß wird nicht gefällt, sondern durch die starke Konzentration an Magnesiumsulfat ausgesalzen.

Die Fällung mit Tannin (nach *Lundin*[14])) wird, wie das Aussalzen mit Magnesiumsulfat und die noch zu beschreibende Fällung mit Uranylazetat, im Filtrat der 5 Stunden gekochten Würze ausgeführt. In einen 100 ccm fassenden Blasenhalskolben werden 50 ccm Würze pipettiert und mit Wasser versetzt, sodaß ca. 95 ccm resultieren. Nach dem Zusatz von 2 ccm 50%iger Schwefelsäure wird der Kolben verschlossen und geschüttelt. Nachdem durch ½stündiges Verweilen im Wasserbad von 20° der Kolbeninhalt diese Temperatur angenommen hat, wird mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Ein Zusatz von 5 ccm 16%iger Tanninlösung bedingt das sofortige Ausfallen des Niederschlages. Sobald durch Schütteln des wiederum verschlossenen Kolbens die Reaktion ihr Ende gefunden hat, wird sofort durch ein Faltenfilter (Schleicher und Schüll, No 572½, Durchmesser 18½ cm) filtriert und durch Verbrennen von 30 ccm des Filtrates der darin enthaltene Stickstoff bestimmt. Die Temperatur muß während des Filtrierens möglichst nahe an 20° gehalten werden, da sonst Trübungen auftreten.

Den hier durch Tannin erhaltenen Niederschlag kann man als eine Folge von zwei Einflüssen bezeichnen. Neben der chemischen Reaktion der Verbindung von Gerbstoff mit Eiweiß unter Bildung von Gerbstoff-Eiweiß-Niederschlägen, geht die Adsorption von hochmolekularen kolloid gelösten Stickstoffverbindungen durch das ebenfalls kolloidlösliche Tannin einher.

Die Fällung mit Uranylazetat[15]) kommt nur durch chemische Reaktion zustande. Nach *Myrbäk* führen wir die Fällung nicht in der Hitze, sondern bei Zimmertemperatur aus. Die Fällung selbst gestaltet sich derart, daß 30 ccm der 5 Std. gekochten Würze in einem Erlenmeyer mit 30 ccm Uranylazetat (7 g in 100 ccm Lösung) unter Umschütteln versetzt werden. Der Erlenmeyer wird dann verschlossen und über Nacht an

---

[14]) Wochenschr. f. Brauerei 1931, 347.

[15]) Zeitschr. f. analytische Chemie 37, 413 (1898) und Monatsheft des schwedischen Brauervereins 1930, Heft 8 und 12.

einem dunklen Ort stehen gelassen. Am nächsten Tage wird der Niederschlag abfiltriert und in 20 ccm des Filtrates der darin enthaltene Stickstoff bestimmt.

Die Adsorption durch Kohle.

Während es sich bei den vorher beschriebenen Fällungen um bekannte Methoden handelt, die, vielleicht von uns etwas abgeändert, im Verlaufe dieser Arbeit zur Differenzierung der beim Maischen entstehenden Eiweißabbauprodukte angewandt werden, soll durch die Adsorption mit Kohle ein neuer Weg in dieser Hinsicht beschritten werden.

Es ist zwar im Verlaufe unserer Arbeit eine Abhandlung von *Stadnik*[16]) erschienen, die sich „Bestimmung der Kolloidform des Eiweißstickstoff in Brauereiflüssigkeiten" betitelt. Es sei nur nebenbei erwähnt, daß unsere Versuche zur Methodik der Adsorption durch Kohle bei Erscheinen der Arbeit von Stadnik beendet waren. Wie ein Vergleich der Arbeiten zeigt, sind außerdem unsere Untersuchungen umfassender als die von Stadnik ausgeführten.

Stadnik läßt Kohle, Carbo medicinalis, auf Bierwürze einwirken und untersucht die Abhängigkeit der Adsorption von äußeren Einflüssen. Er untersucht, wie auch wir, den Einfluß der Schütteldauer auf die Adsorption und stellt im Gegensatz zu uns fest, daß erst nach einer halben Stunde die Adsorption eine vollständige ist. Wir erreichen eine konstante Adsorption schon nach einigen Minuten. Anscheinend liegt diese Unstimmigkeit an den verschiedenen Kohlearten; denn wir verwenden die hochaktive Kohle von Schering. Weiterhin stellt Stadnik, gleich uns, fest, daß mit sinkendem p_H die Menge des adsorbierten Stickstoffs abnimmt. Andere von dem Verfasser unternommene Versuche haben mit den unserigen nichts zu tun und brauchen deshalb nicht erwähnt zu werden.

Vor der eigentlichen Anwendung der Kohleadsorption sind von uns umfangreiche Versuche ausgeführt worden, die den Einfluß der verschiedensten Faktoren auf die Adsorption zeigen. Es wird zuerst der in der Kohle enthaltene Stickstoff bestimmt und festgestellt, wieviel des vorhandenen Gesamt-Stickstoffs durch Schütteln mit Wasser entfernt wird. Weiterhin wird untersucht wie sich die Schütteldauer, die Kohlemenge, das p_H, die Konzentration der Würze, das Kochen der Würze mit und ohne Salzsäure etc. auf die Adsorption auswirkt.

Nach diesem kurzen Ueberblick über die von uns mit Kohle ausgeführten Untersuchungen folgt jetzt eine genaue Beschreibung derselben.

Bestimmung des in der Kohle enthaltenen Stickstoffs.

Es werden zwecks Doppelbestimmung 2 mal ca. 1 g Kohle eingewogen und durch Verbrennen der darin enthaltene Stickstoff bestimmt. Es ergibt sich so, daß in 1 g der von uns verwendeten Kohle 3,56 mg Stickstoff enthalten sind.

Nun fragt es sich, inwieweit der in der Kohle enthaltene Stickstoff die später zu erhaltenden Resultate beeinflußt. Da im folgenden stets der Stickstoffgehalt des Filtrates bestimmt wird, nachdem also die Kohle auf Würze eingewirkt hat, muß man wissen, wieviel des in der Kohle enthaltenen Stickstoffs beim Schütteln in Lösung gehen. Es folgt daher die

---

[16]) Der böhmische Bierbrauer, 1932, 167.

Bestimmung der Löslichkeit des in der Kohle enthaltenen Stickstoffs.

Ca. 5 g Kohle werden in eine 200 ccm fassende Flasche eingewogen, mit 100 ccm Wasser versetzt, die Flasche mit einem Gummistopfen verschlossen und ½ Stunde geschüttelt. Da das Filtrat durch mitlaufende Kohlepartikelchen getrübt ist, wird das Filtrat so oft zurückgegossen, bis es klar läuft. Nach 2- bis 3maligem Zurückgießen ist die Trübung beseitigt. In 20 ccm des Filtrates wird eine Gesamt-Stickstoff-Bestimmung vorgenommen und so festgestellt, daß aus 1 g Kohle 0,14 mg Stickstoff in Lösung gehen, eine Menge, die gegenüber dem Stickstoffgehalt der Würze keine Rolle spielt. Es ist daher nicht notwendig, auf den in der Kohle enthaltenen Stickstoff Rücksicht zu nehmen.

Bestimmung der Adsorption von Glykokoll.

Durch den im Anschluß auszuführenden Versuch soll der Beweis erbracht werden, daß die Kohle tatsächlich ein geeignetes Mittel darstellt, um in einer Würze eine Trennung in hoch- und niedrigmolekulare Eiweißstoffe durchzuführen. Stellt man sich also eine Lösung her, von der man bestimmt weiß, daß sie nur molekularlöslichen Aminostickstoff enthält und behandelt diese mit Kohle, so darf nur sehr wenig von diesem sog. formoltitrierbarem Stickstoff entfernt werden. Wir stellen uns zu diesem Zwecke eine Glykokollösung her, deren Gehalt wir kennen, schütteln von dieser je 200 ccm mit 8 g und 16 g Kohle ½ Stunde lang und bestimmen den nach dem Schütteln noch enthaltenen Stickstoff im Filtrat. Der adsorbierte Stickstoff ergibt sich aus der Differenz zwischen dem ursprünglich vorhandenen und dem im Filtrat noch enthaltenen Stickstoff.

Wie die nachstehend aufgeführten Zahlen zeigen, steigt zwar der adsorbierte Aminostickstoff mit der Menge der angewandten Kohle, es ist aber die adsorbierte Stickstoffmenge im Verhältnis zur ursprünglich vorhandenen eine sehr geringe.

Ergebnis:

angewandte Kohle (C)-Menge	ursprgl. vorhand. Ges.-N	adsorb. Ges.-N	ursprgl. vorhand. Formol-N	adsorb. Formol-N
4	99,7	2,3	99,7	2,2
8	99,7	4,4	99,7	4,2

Die in der Tabelle angegebenen Zahlen für die Kohlenmenge bedeuten g pro 100 ccm Lösung. Die angegebenen Werte für den vorhandenen bzw. adsorbierten Gesamt- und Formol-Stickstoff stellen mg pro 100 ccm Lösung dar. Das gleiche gilt für die nachfolgenden Tabellen über die mit Kohle angestellten Untersuchungen, sofern keine andere Bezeichnung vorhanden ist.

Einfluß der Schütteldauer auf die adsorbierte Stickstoffmenge.

Ausführung:

Eine Ausschlagwürze wird zwecks Beseitigung des noch vorhandenen koagulierbaren Stickstoffs 2 Stunden unter zeitweiligem Ersatz des verdampften Wassers gekocht. Nach dem Abkühlen wird filtriert und zur Haltbarmachung der Würze pro 1 Liter 1 ccm Chloroform hinzugegeben.

Nach der Bestimmung des Gesamt- und Formol-Stickstoffs werden je 100 ccm obiger Würze mit 2 g Kohle versetzt und je 1, 5, 10, 20, 40 und 80 Minuten geschüttelt. Derselbe Versuch wird mit 4 g Kohle für die Schütteldauer von 1, 20 und 80 Minuten wiederholt.

Ergebnis:

angewandte C-Menge	Schütteldauer in Minuten	vorhand. Ges.-N	adsorb. Ges.-N
2	1	94	44,4
2	5	94	44,8
2	10	94	44,3
2	20	94	44,9
2	40	94	44,4
2	80	94	44,9
4	1	94	51,0
4	20	94	51,1
4	80	94	50.7

Die Zahlen zeigen, daß bei beiden Mengen der von uns angewendeten hochaktiven Kohle von Schering schon nach einer Minute die Adsorption eine vollständige ist. Wir haben aber zur Sicherheit bei allen folgenden Versuchen eine Schütteldauer von 10 Minuten gewählt.

Einfluß der Kohlemenge auf die Adsorption.

Im folgenden soll die Abhängigkeit der Adsorption von der Kohlenmenge bei der gleichen Schütteldauer von 10 Minuten untersucht werden.

Ausführung:

Von einer gekochten 12%igen Ausschlagwürze, deren Gesamt- und Formol-Stickstoff bekannt ist, werden je 200 ccm mit 1, 2, 4 und 8 g Kohle und je 300 ccm mit 24 und 48 g Kohle 10 Minuten geschüttelt. Nach dem Filtrieren der mit 0,5; 1; 2; 4; 8 und 16 % Kohle behandelten Würze ergibt sich der adsorbierte Gesamt- und Formol-Stickstoff in 100 ccm als Differenz des vorher in 100 ccm Würze und des nach dem Schütteln in 100 ccm vorhandenen Gesamt- und Formol-Stickstoffs.

Ergebnis:

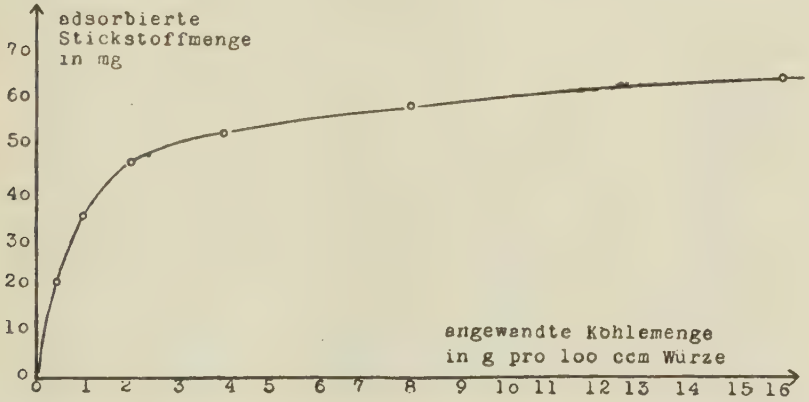
angew. C-Menge	vorhand. Ges.-N	adsorb. Ges.-N	adsorb. Ges.-N in % d. ursprgl. vorhand. Ges.-N
0,5	94	20,8	22,4
1	94	34,7	37,3
2	94	46,1	49,5
4	94	52,5	56,4
8	94	58,1	62,4
16	94	65,3	70,2

angew. C-Menge	vorhand. Formol-N	adsorb. Formol-N	adsorb. Formol-N in % des ursprgl. vorhand. Formol-N	adsorb. Formol-N in % des adsorb. Ges.-N
0,5	28,3	0,7	2,4	3,3
1	28,3	2,7	9,5	7,8
2	28,3	3,9	13,8	8,5
4	28,3	5,8	20,4	11,0
8	28,3	7,2	25,5	12,4
16	28,3	8,8	31,0	13,4

Es zeigt sich, daß mit einer Steigerung der Kohlemenge ebenfalls eine Steigerung der Adsorption einher geht. Es wird zwar auch Formol-Stickstoff adsorbiert, jedoch ist der adsorbierte Formol-Stickstoff im Verhältnis zum entnommenen Gesamt-Stickstoff nur gering.

Stellt man die Abhängigkeit der adsorbierten Stickstoffmenge von der angewandten Anzahl g Kohle graphisch dar, so ergibt sich eine Kurve, die zuerst stark ansteigend, sich mehr und mehr der Horizontale nähert (siehe Diagramm 1).

Diagramm 1.



Untersuchungen über die Adsorptionswirkung, wenn Kohle auf Würze und auf die Filtrate der mit Kohle geschüttelten Würze einwirkt.

Zwei Liter einer gekochten Ausschlagwürze werden mit 80 g Kohle (= 4 %) 10 Minuten geschüttelt. Nachdem im Filtrat Gesamt- und Formol-Stickstoff bestimmt ist, wird der Rest wiederum in der bekannten Art mit 4 % Kohle behandelt u. s. f.

Die erste, also die durch Kohle in der ursprünglichen Würze, erreichte Adsorptionsmenge ist die größte. Man sieht aber, daß trotzdem weitere zugefügte Kohle immer noch etwas Stickstoff herauszuholen vermag. Es wird sich also praktisch nie eine vollständige Adsorption erreichen lassen, wie es ja auch schon der vorige Versuch gezeigt hat.

Ergebnis:

	vorhand. Ges.-N	adsorb. Ges.-N	Zunahme d. adsorb. Ges.-N zwischen 2 aufeinander folgenden Schüttelungen	absorb. Ges.-N in % des ursprünglich vorhandenen Ges. N
Würze	93,1	53,1		57,1
Filtrat 1	40,0	60,1	7,0	64,6
Filtrat 2	33,0	63,7	3,6	68,4
Filtrat 3	29,4	66,4	2,7	71,4
Filtrat 4	26,7	68,9	2,5	74,0
Filtrat 5	24,2	70,4	1,5	75,6
Filtrat 6	22,7			

	vorhand. For-mol-N	adsorb. For-mol-N	Zunahme d. adsorb. For-mol-N zwischen 2 aufeinander folgenden Filtraten	adsorb. Formol-N in % des ursprgl. vorhand. Formol-N	adsorb. Formol-N in % des adsorb. Ges.-N
Würze	28,3	6,2		21,6	11,5
Filtrat 1	22,1	7,1	0,9	25,0	11,8
Filtrat 2	21,2	7,9	0,8	27,8	12,3
Filtrat 3	20,4	9,6	1,7	33,7	14,3
Filtrat 4	18,7	10,6	1,0	37,4	15,3
Filtrat 5	17,7	11,0	0,4	38,7	15,5
Filtrat 6	17,3				

Vergleichswerte lassen sich aber trotzdem erhalten, wenn man stets die gleiche Kohlemenge unter denselben Arbeitsbedingungen anwendet.

Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Adsorption.

Vermittels Lauge oder Säure stellen wir das p_H einer Würze ein und bestimmen in einer abgemessenen Würzemenge die Adsorption.

Ausführung:

Wie aus nachfolgender Tabelle ersichtlich, werden 200 ccm gekochter Würze mit Lauge bzw. Säure und Wasser so verdünnt, daß 240 ccm resultieren.

angewandte Würze-menge in ccm	zugegebene n/10 NaOH bzw. n/10 HCl in ccm	zugeg. Wasser in ccm	resultierende verdünnte Würze in ccm	Nr.
200	36 n/10 NaOH	4	240	1
200	26 n/10 NaOH	14	240	2
200	16 n/10 NaOH	24	240	3
200	6 n/10 NaOH	34	240	4
200	0 n/10 NaOH	40	240	5
200	4 n/10 HCl	36	240	6
200	16 n/10 HCl	24	240	7
200	40 n/10 HCl	0	240	8

Dieser auf 240 ccm verdünnten Würze werden 200 ccm entnommen und jeweils mit 8 g Kohle (= 4%) geschüttelt. Der Rest der verdünnten Würze dient zum Messen des p_H. Nachdem der im Filtrat der enteiweißten Würze enthaltene Gesamt- und Formol-Stickstoff bestimmt ist, läßt sich durch eine einfache Umrechnung, die sich aus der bekannten Verdünnung ergibt, bestimmen, wieviel mg an Gesamt- und Formol-Stickstoff dementsprechend noch in 100 ccm ursprünglicher Würze vorhanden wären. Durch Subtraktion dieser Werte von denjenigen der unverdünnten, mit Kohle nicht behandelten Würze ergibt sich die Adsorption.

Ergebnis:

pH	vorhandener Gesamt-N	adsorbierter Gesamt-N	adsorb. Ges.-N in % d. ursprgl. vorhand. Ges.-N
8,07	106,7	60,9	57,1
7,50	106,7	60,7	57,0
6,77	106,7	60,6	56,9
6,06	106,7	60,2	56,4
5,44	106,7	60,1	56,4
5,03	106,7	59,7	55,9
3,99	106,7	58,9	55,3
2.89	106,7	57,6	54.0

pH	vorhand. Formol-N	adsorb. Formol-N	adsorb. Formol-N in % d. ursprgl. vorhand. Formol-N	adsorb. Formol-N in % des adsorb. Gesamt-N
8,07	36,9	6,7	18,1	11,0
7.50	36,9	6,6	17,8	10,8
6,77	36,9	7,3	19,8	12,1
6,06	36,9	6,8	18,4	11,3
5,44	36.9	6,5	17,6	10,8
5,03	36,9	6,9	18,7	11,6
3,99	36,9	6,8	18,4	11,5
2,89	36,9	6,5	17,6	11,3

Wenn auch das p_H keinen sehr großen Einfluß auf die Adsorption ausübt — es verringert sich der adsorbierte Gesamt-Stickstoff nur um etwa 3% innerhalb des untersuchten Intervalles — so zeigt sich doch klar, daß mit steigendem p_H die Adsorption größer wird. Aus diesem Grunde werden wir bei späteren Versuchen, sofern eine Aenderung des p_H in Frage kommt, die zur Adsorption verwandte Würze stets auf ein p_H von ca. 6, entsprechend der normalen Wasserstoffionenkonzentration sonstiger Würzen, bringen.

Bei den durch Adsorption erhaltenen Formolwerten zeigt sich praktisch kein Einfluß des p_H. Die adsorbierten Formolmengen sind relativ klein und die verhältnismäßig große Fehlergrenze der Formoltitration verdeckt möglicherweise eine vorhandene Gesetzmäßigkeit.

Einfluß der Konzentration der Würze auf die Adsorption.

Als nächstes soll uns die Frage beschäftigen, wie es sich mit der Adsorption verhält, wenn der gleichen Kohlemenge in derselben Anzahl ccm Würze verschiedene Mengen von Eiweiß geboten werden. Wir wollen also die Abhängigkeit der Adsorption von der Konzentration der Würze untersuchen.

Ausführung:

Eine vom koagulierbaren Eiweiß befreite Vorderwürze wird auf 20 % (20 g Extrakt in 100 ccm Würze) eingestellt. Aus den nachstehend angeführten Angaben ist zu ersehen, wie die Verdünnung zu bewerkstelligen ist, um den Gehalt der Würzen auf 16, 12 und 8 % Extraktgehalt zu bringen.

Verhältnis Würze : H_2O	die zu verdünnende Menge d. 20%igen Würze in ccm	zugegebenes Wasser in ccm	resultierende Menge der verdünnten Würze in ccm	Nr.
1 : 0	200	0	200	1
1 : 0,25	160	40	200	2
1 : 0,66	120	80	200	3
1 : 1,50	80	120	200	4

In den so gewonnenen Würzen wird durch Einwirken von 4 % Kohle die Adsorption bestimmt.

Ergebnis:

Nr.	vorhandener Gesamt-N	adsorbierter Gesamt-N	adsorbierter Gesamt-N in % d. ursprgl. vorhand. Gesamt-N
4	68,1	40,5	59,5
3	102,7	58,9	57,3
2	137,4	75,4	54,9
1	172,3	88,3	51,2

Nr.	vorhand. Formol-N	adsorb. Formol-N	adsorb. Formol-N in % d. ursprgl. vorhand. Formol-N	adsorb. Formol-N in % d. adsorb. Gesamt-N
4	21,1	3,1	14,8	7,7
3	31,8	4,5	14,1	7,6
2	42,5	5,7	13,3	7,5
1	53,3	6,4	12,0	7,2

Die Tabelle zeigt, daß die adsorbierte Stickstoffmenge mit der Konzentration des Stickstoffs steigt. Die Steigerung ist aber der Stickstoffkonzentration nicht direkt proportional, sodaß z. B. bei 68,1 mg ursprünglich vorhandenen Stickstoffs 59,5 % und bei 102,7 mg nur 57,3 % Gesamt-Stickstoff adsorbiert werden. Wie weiter unten gezeigt werden wird, ver-

gleichen wir die Adsorption mit Kohle in Würzen, deren Stickstoffgehalt etwa in dem eben angegebenen Verhältnis variiert. Dieser Vergleich ist also, streng genommen, nicht statthaft. Praktisch liegen die Verhältnisse aber so, daß die Ergebnisse durch die verschiedenen Stickstoffkonzentrationen nicht wesentlich verändert werden.

Bestimmung der Adsorption, wenn 1.) die Würze mit Wasser im Verhältnis 2 : 1 und 2.) die Würze mit einer Glykokollösung (ca 60 mg in 100 ccm) ebenfalls im Verhältnis 2 : 1 verdünnt wird.

Durch den hier auszuführenden Versuch soll gezeigt werden, daß die Kohle die Eigenschaft besitzt, hauptsächlich den hochmolekularen Stickstoff zu adsorbieren.

Bei einem der vorherigen Versuche ließ man Kohle nur auf eine Glykokollösung einwirken und zeigte, daß sie von dieser fast nichts entnimmt. Im vorliegenden Falle soll dargestellt werden, wie sich die Kohle gegenüber Aminosäuren, z. B. Glykokoll, verhält, wenn die zu schüttelnde Lösung nicht nur Aminosäuren, sondern auch hochmolekularen Stickstoff enthält. Wir verdünnen zu diesem Zweck eine gegebene Würze einmal mit Wasser und ein anderes Mal mit einer Glykokollösung. Die Einwirkung von Kohle auf die verschieden hergestellten, aber praktisch die gleiche Menge hochmolekulares Eiweiß und verschiedene Mengen niedrigmolekulares Eiweiß enthaltenden Würzen muß ungefähr die gleichen Ergebnisse zeitigen.

Ausführung:

200 ccm 18%iger Würze werden mit 100 ccm Wasser vermischt. Nach der Entnahme von 100 ccm, die zur Bestimmung des Gesamt- und Formol-Stickstoffs dienen, wird der Rest mit 4 % Kohle behandelt und die Adsorption gemessen. Zur Ausführung der Vergleichsbestimmung werden 200 ccm der gleichen Würze (der 18%igen) mit 100 ccm einer Glykokollösung (60 mg in 100 ccm) vermengt und auf dieselbe Art, wie oben, Gesamt-Stickstoff, Formol-Stickstoff und Adsorption bestimmt.

Ergebnis:

Verdünnung: 200 ccm Würze + 100 ccm Wasser

	vorhanden	adsorbiert
Gesamt-Stickstoff	104,7	58,9
Formol-Stickstoff	33,3	6,5

Verdünnung: 200 ccm Würze + 100 ccm Glykokollösung

	vorhanden	adsobiert
Gesamt-Stickstoff	124,7	58,2
Formol-Stickstoff	52,6	6,8

Die Versuchsergebnisse, die als praktisch gleich anzusehen sind, bestätigen also die Annahme, daß fast nur der hochmolekulare Stickstoff durch die Kohle entnommen wird.

Bestimmung der Adsorption, wenn 1.) die Würze mit Wasser und 2.) die Würze mit verschiedenen Mengen eines Extraktes aus enteiweißter Würze versetzt wird.

Bei diesem Versuch wird die Würze nicht mit einer Glykokolllösung verdünnt, sondern mit den niedrigmolekularen Eiweißabbauprodukten, die noch in Würze vorhanden sind, nachdem letztere mit Kohle geschüttelt wurde.

Ausführung:

650 ccm der gleichen Würze wie beim vorigen Versuch werden mit 325 ccm Wasser versezt und mit 40 g Kohle geschüttelt. 600 ccm des Filtrates werden im Vakuum auf 200 ccm eingeengt.

Der Versuch selbst gestaltet sich so, daß 200 ccm Würze mit 100 ccm Wasser vermischt werden und nach der Entnahme von 100 ccm zur Bestimmung des Gesamt- und Formol-Stickstoffes der Rest mit 4 % Kohle behandelt wird. Zur Vergleichsadsorption versetzt man 200 ccm der Würze mit einmal je 50 ccm des obigen Extraktes + 50 ccm Wasser, ein anderes Mal mit 100 ccm des Extraktes. Je 100 ccm der letzteren Mischungen dienen wieder zur Bestimmung des darin enthaltenen Stickstoffs, während der Rest zur Bestimmung der Adsorption mit 4 % Kohle verwendet wird.

Ergebnis:

Verdünnung: 200 ccm Würze + 100 ccm Wasser

	vorhanden	adsorbiert
Gesamt-Stickstoff	105,3	58,6
Formol-Stickstoff	34,3	7,9

Verdünnung: 200 ccm Würze + 50 ccm Extrakt + 50 ccm Wasser

	vorhanden	adsorbiert
Gesamt-Stickstoff	128,6	59,1
Formol-Stickstoff	50,6	8,3

Verdünnung: 200 ccm Würze + 100 ccm Extrakt

	vorhanden	adsorbiert
Gesamt-Stickstoff	151,9	59,6
Formol-Stickstoff	64,9	8,1

Wie beim vorigen Versuch, so bestätigt sich auch hier die Annahme, daß trotz der Steigerung des Gesamt-Stickstoffes um 47 mg die adsorbierten Mengen an Gesamt- und Formol-Stickstoff praktisch die gleichen geblieben sind. Die Kohle adsorbiert kaum etwas von dem ihr gebotenen Ueberschuß an niedrigmolekularen Eiweiß.

Einfluß des Kochens einer Würze auf die Adsorption.

Der Sinn dieses Versuches liegt darin, daß man einer Würze successive den hochmolekularen Stickstoff entnimmt und im Anschluß daran die jeweilige Adsorption feststellt. Das Entfernen des hochmolekularen Stick-

stoffs wird dadurch bewerkstelligt, daß man die Würzen jeweils verschiedene Zeiten kochen läßt, wodurch, je nach der Kochdauer, mehr oder weniger koagulierbarer Stickstoff entfernt wird. Da der koagulierbare Stickstoff sicherlich nur hochmolekulares Eiweiß darstellt, so muß der adsorbierbare Stickstoff entsprechend sinken, da die Kohle ja vornehmlich diese Art des Eiweiß adsorbiert.

Ausführung:

Von einer ungekochten Vorderwürze, deren Gesamt- und Formol-Stickstoff bekannt ist, werden die gleichen Mengen 1 Stunde, 2 und 3 Stunden am Rückflußkühler kochen gelassen. Nach dem Abfiltrieren des koagulierten Eiweißes und der Bestimmung des jeweiligen Gesamt- und Formol-Stickstoffs, lassen wir auf die Filtrate der einzelnen Würzen die Kohle in einer Konzentration von 4 % einwirken. Die adsorbierte Stickstoffmenge ergibt sich als Differenz zwischen dem Stickstoff vor und nach der Behandlung mit Kohle.

Ergebnis:

Kochdauer	nach d. Kochen vorhandener Gesamt-N	durch d. Kochen gefälltes Eiweiß	adsorb. Ges.-N	Unterschiede in der Adsorption
0 Std.	146,3	—	84,9	—
1 Std.	138,8	7,5	78,4	6,5
2 Std.	134,0	4,8	74,4	4,0
3 Std.	131,3	2,7	72,3	2,1

Kochdauer	vorhandener Formol-N	adsorbierter Formol-N
0 Std.	46,0	9,9
1 Std.	46,0	9,4
2 Std.	45,4	9,3
3 Std.	45,8	8,9

Der adsorbierte Stickstoff sinkt demnach parallel mit dem durch das Kochen ausgefällten; aber die adsorbierten Mengen sind durchweg etwas niedriger als die koagulierten. Daraus geht hervor, daß durch das Kochen nicht nur Eiweiß ausgeschieden wird, sondern auch ein Teil der dauernd löslichen Eiweißstoffe durch kolloidchemische oder hydrolytische Vorgänge weiter dispergiert wird. Daß es dabei aber nicht zur Bildung von formoltitrierbaren Produkten kommt, geht aus den praktisch gleichbleibenden Zahlen für den Formol-Stickstoff hervor.

Einfluß des Kochens einer Würze mit Salzsäure auf die Adsorption.

Im Gegensatz zum vorigen Versuch soll hier nicht hochmolekulares Eiweiß ausgeschieden werden, sondern die Menge der niedrigmolekularen Verbindungen durch Hydrolyse mit HCl erhöht werden. Auch dieser Vorgang muß zu einer Verringerung des adsorbierbaren Stickstoffs führen.

Behandeln wir also eine Würze während verschiedener Zeit mit Salzsäure, so muß infolge der eiweißspaltenden Wirkung der Säure die Würze einen höheren Gehalt an Aminostickstoff erhalten.

Ausführung:

Je 400 ccm Würze werden mit der gleichen Menge einer HCl-Lösung versetzt, sodaß ihr Gehalt an HCl ca. 1% beträgt und je 0, 2, 4 und 8 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Nach dem Abkühlen und Filtrieren wird die zugegebene HCl mit einer vorher bestimmten Menge NaOH neutralisiert. In der so hergestellten Würze bestimmen wir Gesamt- und Formol-Stickstoff sowie die durch 4 % Kohle entnommenen mg an Gesamt- und Formol-Stickstoff.

Ergebnis:

Kochdauer mit HCl	vorhand. Ges.-N	adsorb. Ges.-N	adsorb. Ges.-N in % d. vorhand. Gesamt-N	vorhand. Formol-N	adsorb. Formol-N
0 Std.	84,9	49,3	58,1	28,3	6,8
2 Std.	80,4	40,5	50,4	33,3	7,0
4 Std.	79,9	35,6	44,6	36,8	7,2
8 Std	79,2	30,5	38,4	39,5	7,5

Der Gesamt-Stickstoff nimmt mit ansteigender Kochdauer ab, weil auch in Gegenwart von Salzsäure ein Teil der Eiweißstoffe koaguliert.

Die Einwirkung der Salzsäure macht sich im übrigen in einer Steigerung des Formol-Stickstoffs bemerkbar. Trotzdem wird bei allen Versuchen praktisch dieselbe Menge Formol-Stickstoff adsorbiert. Im Gegensatz dazu nimmt die Menge des adsorbierbaren Gesamt-Stickstoffs, wie nicht anders zu erwarten, stetig ab. Es ist dieses ein weiterer Beweis dafür, daß die aktive Kohle ein Mittel zur Trennung von hoch- und niedrigmolekularem Eiweiß ist. Daß mit dem hochmolekularen Stickstoff auch stets eine gewisse Menge formoltitrierbaren Stickstoffs mit adsorbiert wird, besagt nicht, daß eine entsprechende Menge Aminosäuren mit erfaßt wird. Wenn auch die Fällung von Aminosäuren, wie die weiter oben beschriebenen Versuche mit Glykokoll zeigen, nicht ganz ausgeschaltet ist, so handelt es sich bei der Adsorption von formoltitrierbarem Stickstoff doch wohl hauptsächlich um verhältnismäßig hochmolekulare Polypeptide, deren endständige Aminogruppe durch die Formoltitration erfaßt wird.

Vergleichende Versuche zwischen Ultrafiltration und Adsorption.

Im folgenden haben wir verschiedene Versuche angestellt, um Ultrafilter herauszufinden, die möglichst schnell und sicher eine gute Trennung des kolloid- und molekularlöslichen Stickstoffs ermöglichen. Es sind folgende Filterarten ausprobiert worden: Membranfilter, Ultrafeinfilter schnell, Ultrafeinfilter mittel und Ultrafeinfilter fein (alle nach Zsigmondy). Auch wird eine kombinierte Ultrafiltration durchgeführt, bei der verschiedene der erwähnten Ultrafilter nacheinander zur Anwendung gelangen.

Es ist müßig, die einzelnen Zahlenwerte der verschiedenen Untersuchungen anzugeben, da dieses weiter unten bei dem genau durchgeführten Hauptversuch geschieht. Wir wollen nur in großen Umrissen das wesentliche der Vorversuche feststellen:

1. Es wird, wenn auch nicht viel, durch einige der Ultrafilter hochmolekulares Eiweiß zurückgehalten.

2. Vergleichswerte sind schlecht zu erzielen, da einerseits ein einmal angewandtes Filter durch den Filterbelag, der sich übrigens schlecht entfernen läßt, der zu filtrierenden Flüssigkeit einen anderen Widerstand bietet als vorher, und andererseits ein neues Filter derselben Sorte bestimmt nicht die gleiche Porengröße besitzt wie das ursprünglich angewandte.

2. In bezug auf die Vergleichswerte ist noch anzuführen, daß infolge der verschiedenen Zeitdauer der Filtration das dadurch über der Flüssigkeit stehende Vakuum ein Verdunsten der Flüssigkeit bedingt, sodaß im Filtrat eine andere Konzentration entsteht, wie sie in der ursprünglichen Würze vorhanden war.

4. Die Ultrafiltration ist bei Bierwürze besonders schwierig durchzuführen, da ja die Würze neben Eiweiß noch sehr viele andere Kolloide enthält (Gummi, Pektine), die eine schlechte Ultrafiltration bedingen.

Hauptversuch:

Trotz dieser Mängel der Ultrafiltration haben wir einen Hauptversuch mit kombinierter Ultrafiltration durchgeführt, das heißt, wir lassen die Würze nacheinander durch Filter laufen, deren Eignung wir durch die Vorversuche festgestellt haben.

Ausführung:

Eine Vorderwürze, die auf einen Gehalt von 12 % gebracht ist, wird 4 Stunden am Rückflußkühler gekocht, filtriert und Gesamt- sowie Formol-Stickstoff bestimmt. Zur Feststellung der später bei der Filtration (deren Dauer drei Tage betrug) eintretenden Verdunstung des Wassers wird eine Phosphorsäurebestimmung ausgeführt. Da die Phosphorsäure als molekularlösliches Individuum bestimmt nicht durch die Filter zurückgehalten wird, so ermöglicht eine im Filtrat der Ultrafilter ausgeführte Phosphorsäurebestimmung die Umrechnung auf die ursprüngliche Konzentration.

Die Filtration selbst gestaltet sich derart, daß wir die vorbehandelte Vorderwürze nacheinander drei Filter passieren lassen. Wir filtrieren zuerst durch ein „Membranfilter mittel", dann durch ein „Membranfilter fein" und schließlich durch ein „Ultrafeinfilter mittel". Zur Herabsetzung der Wasserverdunstung wird die Saugflasche in Eis gesetzt. Im Filtrat wird der noch vorhandene Gesamt- und Formol-Stickstoff bestimmt und unter Berücksichtigung der Phosphorsäureanalysen auf 100 ccm ursprüngliche Würze umgerechnet.

Ergebnis:

	vorhanden in 100 ccm	nach der Ultrafiltration noch vorhand. in 100 ccm	durch d. Filter aus 100 ccm entfernt
Gesamt-N	97,7	82,6	15,1
Formol-N	32,5	31,8	0,7

Wie ersichtlich, entnehmen die Filter trotz der langwierigen Manipulation nicht ganz so viel Stickstoff, wie es 0,5 % Kohle in bedeutend kürzerer Zeit erreichen würden. Zum Vergleich seien hier die Ergebnisse eines weiter oben angeführten Versuches mit 0,5 % Kohle wiederholt (siehe „Einfluß der Kohlemenge auf die Adsorption"):

0,5 % Kohle adsorbiert 20,8 mg Gesamt-Stickstoff und 0,7 mg Formol-Stickstoff.

Die Tatsache, daß bei dem Versuch mit Kohle relativ nicht mehr Formol-Stickstoff adsorbiert als durch das Ultrafilter zurückgehalten wird, beweist einwandfrei, daß die Kohle genau wie das Ultrafilter vornehmlich das hochmolekulare Eiweiß entfernt.

Es sei im Anschluß an diese Untersuchungen erwähnt, daß wir stets die gleiche Kohle in Anwendung bringen, und daß diese, wie vergleichende Versuche innerhalb der Dauer dieser Arbeit gezeigt haben, stets die gleiche Adsorptionsfähigkeit besitzt.

Nachdem durch die im letzten Kapitel dargestellten Untersuchungen gezeigt ist, in welcher Art und Weise die Fällungs- beziehungsweise Adsorptionsmittel angewendet werden müssen, soll im folgenden versucht werden, ihre Anwendung zur Differenzierung der bei der Autolyse entstehenden Eiweißabbauprodukte nutzbar zu machen. Wir untersuchen den Einfluß der Maischtemperatur und Maischdauer, des p_H und der Maischekonzentration auf den Eiweißabbau. Die Bestimmung der einzelnen Abbauprodukte wird so vorgenommen, wie sie unter dem Kapitel „Methodisches" angegeben ist.

3. *Einfluß der Maischtemperatur und der Maischdauer auf den Eiweißabbau.*

Im direkten Zusammenhang mit den von uns auszuführenden Versuchen stehen nur die Ergebnisse, die von anderen Autoren beim Maischen mit Darrmalz erhalten worden sind.

Weiß [17]) findet für den löslichen Stickstoff, bei Maischzeiten von 1¾ bis 4¼ Stunden, allerdings bei weit auseinander liegenden Versuchstemperaturen von 35 °, 50 ° und 62,5 °, ein Temperaturoptimum von 50 °.

Für die Bildung von dauernd löslichem Stickstoff beim Maischen stellen *Windisch* und *Reiser* [18]) das Optimum der Temperatur bei 50 ° fest.

Nach *Schjerning* [19]) wiederum ergibt sich als günstigste Temperatur für die Bildung von löslichem Stickstoff 45 °, für die Bildung von dauernd löslichem Stickstoff 55 ° und für die Bildung von formoltitrierbarem Stickstoff eine solche von 38 ° bis 45 °.

Bei einer Maischdauer von 2½ Stunden findet *Adler* [20]) für die Zunahme des Formol-Stickstoffs ein Optimum von 46 °.

Wie die Angaben beweisen, liegt das Temperaturoptimum für die Bildung des dauernd löslichen Stickstoffs deutlich höher als das für die Bildung des formoltitrierbaren Stickstoffs. Die von den einzelnen Autoren gefundenen Unterschiede der Optima lassen sich nur dadurch erklären, daß es nicht genügend berücksichtigt wurde, daß das Optimum mit der Maischdauer schwanken muß (Zerstörung der Enzyme durch die Hitzewirkung).

Windisch, Kolbach und *Schild* [21]) untersuchen die Temperaturwirkung bei verschiedener Maischdauer und stellen fest (s. auch Einleitung), daß

1. das Temperaturoptimum für die Bildung des dauernd löslichen Stickstoffs mit der Maischdauer schwankt und bei zwei verschiedenen Malzen (normales p_H) im Mittel beträgt:

Maischdauer	Temperaturoptimum
¼ Std.	61° bis 63°
½ Std.	60° bis 61°
1 Std.	57° bis 59°
2 Std.	56° bis 58°
3 Std.	55° bis 57°

[17]) Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen 1904, 385.
[18]) Wochenschr. f. Brauerei 1912, 273.
[19]) Compt. rend. Lab. Carlsberg 9, 237.
[20]) Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen 1915, 129.
[21]) Wochenschr. f. Brauerei 1931, 253.

2. das Temperaturoptimum für die Bildung des formoltitrierbaren Stickstoffs ebenfalls von der Maischdauer abhängig ist und um mehrere Grade niedriger liegt als das für den dauernd löslichen Stickstoff:

Maischdauer	Temperaturoptimum
1/4 Std.	56° bis 60°
1/2 Std.	54° bis 58°
1 Std.	52° bis 56°
2 Std.	48° bis 52°
3 Std.	47° bis 51°

3. der beim Maischen gebildete Formol-Stickstoff, ausgedrückt in % des dauernd löslichen Stickstoffs, mit steigender Temperatur fällt.

4. der beim Maischen gebildete Formol-Stickstoff in % des dauernd löslichen Stickstoffs bei gleicher Temperatur mit steigender Maischdauer zunimmt.

Wie aus allen diesen Literaturangaben hervorgeht, erstrecken sich die Untersuchungen, mit Ausnahme der schon kritisierten Schjerningschen Versuche (s. Einleitung), nur auf den Gesamt- und formoltitrierbaren Stickstoff. Wir versuchen daher, neben der Bestimmung des Gesamt- und Formol-Stickstoffs, durch unsere schon angeführten Methoden weiteren Einblick in den Eiweißabbau zu bekommen.

Bei unseren Versuchen werden 75 g Malzmehl (helles Hochschul-Darrmalz) nach der gleichen Arbeitsweise, wie sie unter „Methodisches" angegeben ist, mit 300 ccm Wasser vermengt und bei 40°, 50°, 60° und 70° je ½ Stunde, 1 Stunde, 2 Stunden und 4 Stunden gemaischt.

Das verwandte Malz hat einen Wassergehalt von 4,68 % und einen Stickstoffgehalt von 1,65 % in der Trockensubstanz.

Im Filtrat der Maische wird der lösliche Stickstoff, der Extraktgehalt und das p_H bestimmt. Der Rest des Filtrates wird 5 Stunden im Kochsalzwasserbad sieden gelassen. Es ist zwar, auch nach fünfstündigem Kochen der Würze, noch nicht alles Eiweiß koaguliert; aber nach *Windisch, Kolbach* und *Vogl*[22]) nähert sich die ausgeschiedene Menge der überhaupt ausscheidbaren so stark, daß trotzdem vergleichbare Werte erhalten werden.

Das Filtrat der 5 Stunden gekochten Würze dient zum Messen des dauernd löslichen Stickstoffs, des Formol-Stickstoffs, des von Kohle (0,5 % und 4 %) adsorbierten, sowie des von Magnesiumsulfat und Tannin gefällten Stickstoffs. Die Fällung mit Uranylazetat wird erst bei späteren Versuchsreihen ausgeführt.

Die in den Tabellen angegebenen Werte bedeuten mg Stickstoff je 100 g Malztrockensubstanz. Es werden mit Hilfe des spezifischen Gewichtes und des Extraktgehaltes der Würzen die Anzahl ccm errechnet, die jeweils aus 100 g Malztrockensubstanz erhalten werden, und die bei der Analyse je 100 ccm erhaltenen Werte auf 100 g Malztrockensubtanz umgerechnet.

Tabelle 1 enthält die beim Maischen nach Umrechnung auf 100 g Malztrockensubstanz sich ergebenden Stickstoffwerte.

---

[22]) Wochenschr. f. Brauerei 1929, 403.

Tabelle 1.

Eiweißabbau bei verschiedener Temperatur und Maischdauer. (normales p_H)

mg Stickstoff (N) in Würze aus 100 g Malztrockensubstanz.

Maischtemperatur 40°				
Maischdauer in Std.	½	1	2	4
p_H	6,11	6,13	6,11	6,11
Extrakt, % Plato	3,57	3,95	4,46	5,13
löslicher N	582	630	676	728
dauernd löslicher N	408	448	501	546
koagulierbarer N	174	182	175	182
formoltitrierbarer N	165	177	201	236
Kohle-N (4%)	212	236	260	267
Kohle-N (0,5 %)	111	127	130	137
Magnesiumsulfat-N	81	84	90	91
Tannin-N	78	81	88	89

Maischtemperatur 50°				
Maischdauer in Std.	½	1	2	4
p_H	6,08	6,03	6,02	6,01
Extrakt, % Plato	4,50	5,22	6,08	7,24
löslicher N	627	671	720	775
dauernd löslicher N	472	521	572	645
koagulierbarer N	155	150	148	130
formoltitrierbarer N	173	198	224	258
Kohle-N (4%)	261	285	301	316
Kohle-N (0,5 %)	137	148	154	159
Magnesiumsulfat-N	91	96	97	102
Tannin-N	95	100	111	126

Maischtemperatur 60°				
Maischdauer in Std.	½	1	2	4
p_H	5,98	5,98	5,96	5,92
Extrakt, % Plato	10,37	11,09	11,46	11,71
löslicher N	653	672	699	716
dauernd löslicher N	538	570	604	627
koagulierbarer N	115	102	95	89
formoltitrierbarer N	187	199	208	228
Kohle-N (4%)	296	315	330	347
Kohle-N (0,5 %)	159	164	166	168
Magnesiumsulfat-N	108	114	122	124
Tannin-N	105	118	125	131

Maischtemperatur 70°				
Maischdauer in Std.	½	1	2	4
p_H	5,97	5,92	5,91	5,90
Extrakt, % Plato	11,57	11,63	11,64	11,67
löslicher N	548	572	587	593
dauernd löslicher N	478	501	520	531
koagulierbarer N	70	71	67	62
formoltitrierbarer N	170	181	183	178
Kohle-N (4%)	278	292	301	307
Kohle-N (0,5 %)	145	147	151	152
Magnesiumsulfat-N	119	124	130	130
Tannin-N	118	119	121	125

Bevor auf die Besprechung der Ergebnisse eingegangen wird, soll die Bedeutung der hier erhaltenen Zahlen erklärt werden. Die in Tabelle 1 angegebenen Werte sind das Resultat von zwei Summanden, nämlich des vorgebildeten löslichen Stickstoffs und des beim Maischen gebildeten löslichen Stickstoffs.

Unter dem vorgebildeten Stickstoff versteht man den schon im Malz enthaltenen löslichen Stickstoff, den man bestimmen kann, wenn das Malz mit eiskaltem Wasser extrahiert wird. Wie wir weiter unter bei der praktischen Durchführung der Bestimmung des vorgebildeten Stickstoffs sehen werden, muß während der gesamten Operation die Temperatur von 0° eingehalten werden, um jede Enzymtätigkeit während der Extraktion auszuschalten.

Bildet man die Differenz zwischen den in Tabelle 1 erhaltenen Werten und dem vorgebildeten Stickstoff (Tabelle 2), so erhält man die Zunahme des Stickstoffs beim Maischen (Tabelle 3). Tabelle 4 enthält die Zahlen, welche die Zunahme der einzelnen Stickstoffarten in % der Zunahme des dauernd löslichen Stickstoffs angeben.

Bestimmung des vorgebildeten Stickstoffs.

75 g auf 0° abgekühltes Malzmehl werden mit 300 ccm Wasser von 0° 50 Minuten gemaischt, anschließend 100 ccm eiskaltes Wasser hinzugegeben und noch weitere 10 Minuten, also zusammen 60 Minuten, gemaischt. Nach dem Aufwiegen der Becher auf 500 g wird die Maische 10 Minuten bei einer Tourenzahl von 3500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und die über den Trebern stehende Würze in einen in Eis stehenden Kolben filtriert. Das Filtrat wird möglichst rasch zur Untersuchung angesetzt. Die Bestimmung der einzelnen Stickstoffarten geschieht so, wie sie unter „Methodisches" angegeben ist.

Ergebnis:

Tabelle 2.

mg Stickstoff aus 100 g Malztrockensubstanz durch 1 stündige Extraktion des Malzes bei 0°.

p_H	6,03
Extrakt, % Plato	2,88
löslicher Stickstoff	488
dauernd löslicher Stickstoff	326
koagulierbarer Stickstoff	162
formoltitrierbarer Stickstoff	135
Kohle-Stickstoff (4%)	168
Kohle-Stickstoff (0.5 %)	88
Magnesiumsulfat-Stickstoff	69
Tannin-Stickstoff	73

Mit Hilfe der in Tabelle 1 und 2 gefundenen Zahlen gelangen wir, wie schon eben erwähnt, zu den in Tabelle 3 und 4 errechneten Werten.

Tabelle 3.

Eiweißabbau bei verschiedener Temperatur und Maischdauer. (normales p_H)

Stickstoffzunahme beim Maischen in mg pro 100 g Malztrockensubstanz.

Maischtemperatur 40°				
Maischdauer in Std.	½	1	2	4
dauernd löslicher N	82	122	175	220
formoltitrierbarer N	30	42	66	101
Kohle-N (4 %)	44	68	92	99
Kohle-N (0,5 %)	23	39	42	49
Magnesiumsulfat-N	12	15	21	22
Tannin-N	5	8	15	16
Maischtemperatur 50°				
Maischdauer in Std.	½	1	2	4
dauernd löslicher N	146	195	246	319
formoltitrierbarer N	38	63	89	123
Kohle-N (4 %)	93	117	133	148
Kohle-N (0,5 %)	49	60	66	71
Magnesiumsulfat-N	22	27	28	33
Tannin-N	22	27	38	53
Maischtemperatur 60°				
Maischdauer in Std.	½	1	2	4
dauernd löslicher N	212	244	278	301
formoltitrierbarer N	52	64	73	93
Kohle-N (4 %)	128	147	162	179
Kohle-N (0,5 %)	71	76	78	80
Magnesiumsulfat-N	39	45	53	55
Tannin-N	32	45	52	58
Maischtemperatur 70°				
Maischdauer in Std.	½	1	2	4
dauernd löslicher N	152	175	194	205
formoltitrierbarer N	35	46	48	43
Kohle-N (4 %)	110	124	133	139
Kohle-N (0,5 %)	57	59	63	64
Magnesiumsulfat-N	50	55	61	61
Tannin-N	45	46	48	52

Tabelle 4.

Eiweißabbau bei verschiedener Temperatur und Maischdauer. (normales p_H)

Zunahme der Stickstoffarten in Prozenten der Zunahme des dauernd löslichen Stickstoffs.

Maischtemperatur 40°				
Maischdauer in Std.	½	1	2	4
formoltitrierbarer N	31	34	37	46
Kohle-N (4 %)	54	55	53	45
Kohle-N (0,5 %)	28	32	24	22
Magnesiumsulfat-N	15	12	12	10
Tannin-N	6	7	8	7

Maischtemperatur 50°

Maischdauer in Std.	½	1	2	4
formoltitrierbarer N	26	32	36	39
Kohle-N (4 %)	64	60	54	46
Kohle-N (0,5 %)	34	31	27	22
Magnesiumsulfat-N	15	14	11	10
Tannin-N	15	14	15	17

Maischtemperatur 60°

Maischdauer in Std.	½	1	2	4
formoltitrierbarer N	24	26	26	31
Kohle-N (4 %)	60	60	58	59
Kohle-N (0,5 %)	34	31	28	27
Magnesiumsulfat-N	18	18	19	18
Tannin-N	15	18	19	19

Maischtemperatur 70°

Maischdauer in Std.	½	1	2	4
formoltitrierbarer N	23	26	25	21
Kohle-N (4 %)	72	71	69	68
Kohle-N (0,5 %)	38	34	33	31
Magnesiumsulfat-N	33	31	31	30
Tannin-N	30	26	25	25

Bei der Auswertung der Versuchsergebnisse sind die Fehlerquellen der Methodik zu berücksichtigen. Die Fehlergrenzen der Kjeldahl- und Formol-Stickstoffbestimmung wirken sich bei der Umrechnung auf Würze pro 100 g Malztrockensubstanz etwa so aus, daß die Werte bis auf ± 3 mg genau sind. Dazu kommen noch die Fehler, die beim Maischen gemacht werden. Für die durch Kohle adsorbierten und durch Tannin gefällten Eiweißmengen ist die Fehlergrenze noch größer (± 6 mg), da ja diese Werte durch Subtraktion von 2 Zahlen erhalten werden, die vielleicht schon mit einem Fehler von 3 mg behaftet sind.

Besprechung der Ergebnisse.

Tabelle 1:

Das p_H ändert sich im Verlaufe der verschiedenen Temperaturen und Maischdauern nur ganz unwesentlich. Es braucht daher keine Korrektur der erhaltenen Zahlen vorgenommen zu werden.

Die Extraktzahlen haben keine besondere Bedeutung in bezug auf das Thema dieser Arbeit. Sie dienen nur zum Umrechnen der Stickstoffwerte in „mg je 100 g Malztrockensubstanz".

Der lösliche Stickstoff ist, wie in der Einleitung schon erwähnt, kein geeigneter Maßstab für die Tätigkeit der proteolytischen Enzyme. Wir brauchen deshalb auf diese Werte nicht näher einzugehen.

Die Menge des koagulierbaren Stickstoffs bleibt bei der Maischtemperatur von 40° annähernd konstant. Von 50° an fällt der koagulierbare Stickstoff mit der Dauer des Maischens. Der Grund für diese Abnahme dürfte in der Koagulation, wahrscheinlich des Leukosins, während des Maischens gesucht werden. Es fällt also schon ein großer Teil des Eiweißes beim Maischen aus, und diese Koagulation wirkt natürlich der lösenden Enzymwirkung entgegen, so daß im löslichen Stickstoff nicht mehr der gesamte ursprünglich vorhandene Gesamt-Stickstoff, d. h. ursprünglich in Lösung gegangene Gesamt-Stickstoff, erfaßt wird.

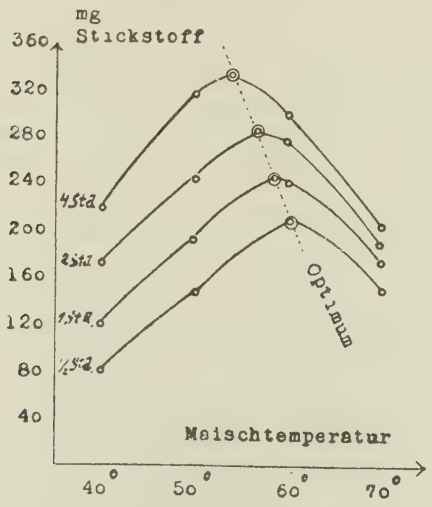
Die Zahlen für den löslichen und koagulierbaren Stickstoff sind demnach von untergeordneter Bedeutung, und wir beschränken uns deshalb in Tabelle 3 und 4 auf die Differenzierung des dauernd löslichen Stickstoffs.

Tabelle 3 und 4:

Wie *Windisch, Kolbach* und *Schild*[23]) zeigen, so stellen auch wir fest, daß das Temperaturoptimum für die Bildung des dauernd löslichen Stickstoffs mit der Maischdauer schwankt. Die bei den verschiedenen Versuchszeiten ermittelten Temperaturen, bei denen die höchsten Stickstoffwerte erhalten werden, sind nach Tabelle 3 und Diagramm 2 folgende:

Maischdauer in Std.	Temperaturoptimum in Grad
$^1/_2$	ca. 60
1	ca. 58
2	ca. 56
4	ca. 54

Diagramm 2.



[23]) Wochenschr. f. Brauerei 1931, 253.

Die von uns gefundenen Optima stimmen mit den von Windisch, Kolbach und Schild gefundenen, sofern es sich um die gleiche Maischdauer handelt, ganz gut überein.

Weiterhin ist noch zu sagen, daß bei allen Temperaturen der dauernd lösliche Stickstoff mit steigender Maischdauer zunimmt. Sogar bei 70 ° und zwei- bis vierstündiger Autolyse ist eine deutliche Enzymwirkung zu erkennen.

Für den formoltitrierbaren Stickstoff, der einen ungefähren Einblick in die letzten Stufen des Abbaues gestattet, liegt das Optimum deutlich niedriger als das für den dauernd löslichen Stickstoff. Mit Hilfe von aus Tabelle 3 (ähnlich Diagramm 2) herzustellenden Kurven ergeben sich für die verschiedenen Maischzeiten als Temperaturoptima für die Bildung des Formol-Stickstoffs folgende:

Maischdauer in Std.	Temperaturoptimum in Grad
½	ca. 57
1	ca. 55
2	ca. 53
4	ca. 49

Auch diese von uns gefundenen Optima stimmen mit den von Windisch, Kolbach und Schild ermittelten überein.

Ebenso wie obige Verfasser stellen wir außerdem fest, daß mit steigender Temperatur der beim Maischen gebildete Formol-Stickstoff, in % des dauernd löslichen Stickstoffs ausgedrückt, fällt (Tabelle 4).

Was die Optima für den dauernd löslichen und den Formol-Stickstoff anbelangt, so erklärt sich die Verschiebung beider Optima bei steigender Maischdauer nach den niedrigen Temperaturen folgendermaßen: Das Temperaturoptimum für eine gegebene Versuchsdauer ist von zwei Einflüssen abhängig. Einmal von der Geschwindigkeit der enzymatischen Reaktion, zum anderen von der Geschwindigkeit der Inaktivierung der Enzyme. Beide Geschwindigkeiten erhöhen sich mit steigender Temperatur. Bei längerer Versuchsdauer kommt der wirkungsverringernde Faktor, die Abtötung der Enzyme, stärker zum Ausdruck, so daß die Optima fallen müssen.

Wie schon festgestellt, liegt das Optimum für die Bildung des formoltitrierbaren Stickstoffs merklich niedriger als das für den dauernd löslichen Stickstoff.

Aus der Einleitung der Arbeit geht hervor, daß die Proteinase die genuinen Eiweißstoffe zu dauernd löslichen Produkten abbaut (Polypeptide und eventuell auch Aminosäuren) und die Peptidasen die entstandenen Peptide in Aminosäuren überführen. Das Temperaturoptimum für den dauernd löslichen Stickstoff liegt demnach in der Nähe des Temperaturoptimums der Proteinase, muß aber nicht mit ihm identisch sein. Die Spaltung der genuinen Eiweißstoffe erfolgt zwar ausschließlich durch die Proteinase, kann aber doch indirekt durch die Wirkung der Peptidasen gefördert werden, da letztere die Abbauprodukte der Proteinase weiter zu Aminosäuren abbauen und auf diese Weise die hemmende Wirkung der Reaktionsprodukte der Proteinase vermindern.

Das Temperaturoptimum für den Formol-Stickstoff muß die Resultierende zwischen dem Optimum der Proteinase und der Peptidasen sein, da die Formoltitration, wie bekannt, die Produkte der Peptidasen quantitativ und die der Proteinase zum Teil erfaßt. Da die Peptidasen temperaturempfindlicher sind als die Proteinase, so muß das Optimum der Peptidasen unter dem der Proteinase liegen, und bei gleichzeitiger Wirkung beider Enzymarten muß sich für die Bildung des Formol-Stickstoffs ein Optimum ergeben, das zwischen den Optima der Proteinase und der Peptidasen gelegen ist.

Nachdem so durch die Formoltitration ein ungefährer Ueberblick über die Verteilung der hoch- und niedrigmolekularen Abbauprodukte im dauernd löslichen Stickstoff erhalten ist, soll durch die Besprechung der Ergebnisse der Adsorptions- und Fällungsmethoden versucht werden, die Differenzierung der Eiweißstoffe noch zu erweitern.

Stellen wir uns zunächst wieder mit Hilfe der in Tabelle 3 erhaltenen Zahlen für den durch Kohle adsorbierten Stickstoff ein Diagramm her, bei dem für die jeweilige Maischdauer von ½, 1, 2 und 4 Stunden die Abhängigkeit der adsorbierten Stickstoffmenge von der Temperatur gezeigt wird, so ergeben sich für das durch 4 % beziehungsweise 0,5 % Kohle dem dauernd löslichen Stickstoff entnommenen Eiweiß folgende Optima:

Maischdauer in Std.	Temperaturoptimum
½	ca. 63°
1	ca. 61°
2	ca. 60°
4	ca. 58°

Die Optima für die Bildung des durch 4 % und 0,5 % Kohle adsorbierbaren Stickstoffs sind also die gleichen und verschieben sich aus der bekannten Erwägung heraus, wie beim dauernd löslichen und Formol-Stickstoff, mit steigender Maischdauer zu den niedrigeren Temperaturen.

Wie weiterhin ersichtlich, liegt das Optimum für den durch Kohle adsorbierbaren Stickstoff merklich höher als das für den dauernd löslichen Stickstoff. Zieht man in Betracht, daß die Kohle nach den Ergebnissen der Vorversuche vornehmlich den hochmolekularen Stickstoff entnimmt, dessen Entstehung der Proteinase zu verdanken ist, während bei der Bildung des dauernd löslichen Stickstoffs auch die Peptidasen noch eine gewisse Rolle spielen, so ist es logisch, daß das Optimum für die Bildung des Kohle-Stickstoffs höher liegt als das für den dauernd löslichen Stickstoff. Die Peptidasen sind bei den höheren Temperaturen infolge ihrer Temperaturempfindlichkeit nicht mehr so wirksam, so daß die Entstehung beziehungsweise Erhaltung hochmolekularer Spaltprodukte gefördert wird. Dazu kommt, daß, wie auch weiter unten gezeigt werden wird, bei höheren Temperaturen die Proteinase das Eiweiß nicht mehr so weitgehend spaltet, so daß auch dadurch das Temperaturoptimum für die Bildung von mit Kohle adsorbierbarem Stickstoff nach oben verschoben werden kann.

Merkwürdig ist, daß das Temperaturoptimum für den mit 0,5 % Kohle adsorbierbaren Stickstoff, der wohl ausschließlich hochmolekularen

Stickstoff darstellt, nicht höher liegt als das für den mit 4 % Kohle adsorbierbaren Stickstoff, der immerhin auch Abbauprodukte mittlerer Molekülgröße einbegreift.

Bei gleicher Temperatur und steigender Maischdauer nehmen die absoluten mit Kohle adsorbierten Mengen zu. Dieses Ansteigen der Kohlefraktion mit der Maischdauer beweist, daß, absolut gesehen, mehr Eiweiß in Lösung geht als weiter zu niedrigmolekularen Spaltprodukten abgebaut wird. Allerdings nimmt der adsorbierte Stickstoff, ausgedrückt in % des vorhandenen dauernd löslichen Stickstoffs, mit steigender Maischdauer ab, das heißt, der Gehalt an niedrigmolekularen Spaltprodukten steigt relativ noch stärker als der an hochmolekularen. Zur Erklärung dieser Verhältnisse kann man anführen, daß 1. die Peptidasen um so kräftiger arbeiten, je mehr Substrat ihnen durch die voraufgehende Tätigkeit der Proteinase geboten wird, und 2. daß die Proteinase zunächst verhältnismäßig hochmolekulare Abbauprodukte bildet, die sie dann erst weiter spaltet.

Betrachten wir jetzt die Größenordnung der Zahlen, die den adsorbierten Stickstoff bei Aenderung der Temperatur ohne Rücksicht auf die Maischdauer angeben, so stellen wir fest, daß, den absoluten Mengen nach zu urteilen, von 40 ° bis 60 ° ein Ansteigen zu verzeichnen ist, während bei 70 ° die Mengen wieder kleiner sind. Diese Reihenfolge war zu erwarten, weil dasselbe auch beim dauernd löslichen Stickstoff in Erscheinung tritt. Zu einem ganz anderen Bilde gelangt man jedoch, wenn man das durch Kohle entnommene Eiweiß in Beziehung zum dauernd löslichen Stickstoff setzt, das heißt, den adsorbierten Stickstoff in % des dauernd löslichen Stickstoffs ausdrückt. Beide Mengen, 0,5 g und 4 g Kohle pro 100 ccm Würze, bewirken eine Enteiweißung derselben, die bei 40 ° am geringsten und bei 70 ° am größten ist. Bei den Maischtemperaturen von 40 ° sind also die Peptidasen am wirksamsten, da doch, wie Tabelle 4 zeigt, hier die kleinste Menge an Stickstoff adsorbiert wird. Trotz der geringeren Zunahme des dauernd löslichen Stickstoffs bei 70 ° ist nach Tabelle 4 bei dieser Temperatur prozentual mehr hochmolekulares Eiweiß gebildet worden als bei niedrigeren Temperaturen. Da bei 70 ° die Peptidasen so schnell abgetötet werden, daß sie praktisch nicht mehr zur Wirkung kommen, so müssen die bei 70 ° beobachteten Erscheinungen mit dem Verhalten der Proteinase zusammenhängen. Offenbar vermag diese noch reichlich Eiweiß in Lösung zu bringen; aber die Spaltung zu niedrigmolekularen Bruchstücken findet nur noch in geringem Maße statt, so daß ein hoher Prozentsatz des gebildeten dauernd löslichen Stickstoffs durch Kohle fällbar bleibt.

Nach *Schjerning*[24]) fällt Magnesiumsulfat, wenn es einer Würze zugesetzt wird, Albumin 1 und 2 und Propepton. *Myrbäk*[25]), der sich in seiner Arbeit mit der Fraktionierung des Eiweißes in Gerste und Malz befaßt, zitiert andere Autoren, nach denen Albumin 1 mit dem „Leukosin" Osbornes, Albumin 2 mit dem Gerstenglobulin „Edestin" Osbornes und Propepton mit der „Albumose" Osbornes identisch sein soll. Im Gegensatz zu Schjerning nimmt Myrbäk an, daß Magnesiumsulfat nur wahre Eiweißstoffe fällt, und nennt den mit Magnesiumsulfat fällbaren Anteil des Gesamt-Stickstoffs mit Vorbehalt die Proteinfraktion.

---

[24]) Zeitschr. f. analytische Chemie 37, 413 (1898).
[25]) Wochenschr. f. Brauerei 1931, 43.

Neben dem Tannin als Eiweißfällungsmittel, wie an anderer Stelle genauer ausgeführt wird, ist Magnesiumsulfat dasjenige der von uns angewandten Reagentien, das absolut und prozentual am wenigsten Eiweiß fällt.

Genau wie bei der Adsorption durch Kohle, so ergibt sich auch hier wieder, daß bei gleichbleibender Temperatur der gefällte Stickstoff mit der Länge der Maischdauer in absoluten Mengen steigt und, in % des dauernd löslichen Stickstoffs umgerechnet, fällt. Die Versuche bei verschiedener Temperatur zeigen, daß das vom Magnesiumsulfat ausgeschiedene Eiweiß bei 70 ° absolut und prozentual die höchsten Werte erreicht. Wenn bei einer Maischtemperatur von 70 °, bei der nach vorangegangenen Ausführungen fast nur hochmolekulares Eiweiß entsteht, die durch Magnesiumsulfat gefällten Mengen die größten sind, so beweist dieses, daß der mit Magnesiumsulfat erhaltene Niederschlag jedenfalls in der Hauptsache aus hochmolekularem Eiweiß besteht.

Im Vergleich zu dem mit Kohle adsorbierbaren Stickstoff kann behauptet werden, daß das Magnesiumsulfat der Würze, wenn auch mengenmäßig wenig, so doch hauptsächlich Eiweißstoffe entnimmt, die ganz hochmolekular sind. Das Optimum für die Bildung des Magnesiumsulfat-Stickstoffs läßt sich zwar auf graphischem Wege nicht ermitteln, doch liegt es nach den Untersuchungen jedenfalls höher als das für den Kohle-Stickstoff.

Das beobachtete Verhalten des Magnesiumsulfates war auf Grund des Aussalzvorganges, durch den die Fällung mit $MgSO_4$ zustande kommt, zu erwarten; denn ein Individuum mit großem Molekül hat eine stärkere Neigung zum Ausfallen als ein solches, das nur aus kleinen Molekülen besteht.

Ob die mit Magnesiumsulfat fällbaren Eiweißstoffe im Sinne von Myrbäk als Proteine aufzufassen sind, bleibt allerdings fraglich. Es ist zu bedenken, daß die Würzen vor der Untersuchung 5 Stunden gekocht werden, wobei das echte Eiweiß entweder quantitativ oder doch bis zu einem bestimmten gleichbleibenden Rest koaguliert. Die Versuchsergebnisse zeigen aber, daß die Menge der Magnesiumsulfat-Fraktion mit der Maischdauer und der Temperatur wechselt.

Was die Eiweißfällung mit T a n n i n betrifft, so ist schon bei den Ausführungen über das Aussalzen mit Magnesiumsulfat gesagt, daß auch das Tannin eines von den am wenigsten fällenden der von uns angewandten Reagentien ist.

Es sei vor der Besprechung der Versuchsergebnisse erwähnt, daß, wie vergleichende Versuche gezeigt haben, die bei der Tanninfällung entstehenden Fehler die größten sind. Die Resultate der Tanninfällung sind daher nicht so beweiskräftig wie die der anderen Fällungsmittel. Wir wollen aber trotzdem das Tannin bei unserer Arbeit verwenden, weil dieses Mittel beziehungsweise die Fällungsmethode von Lundin bereits Eingang in die Brauereilaboratorien gefunden hat.

Bei gleichbleidender Temperatur und zunehmender Maischdauer steigen auch hier die absoluten gefällten Mengen Eiweiß. Der Tannin-Stickstoff in % des dauernd löslichen Stickstoffs ergibt jedoch ein den anderen Adsorptions- und Fällungsmitteln entgegengesetztes Bild. Bei keiner der Temperaturen ist eine gesetzmäßige Veränderung mit der Länge

der Maischdauer zu erkennen. Dieses Verhalten dürfte vielleicht so zu erklären sein, daß das Tannin, wie es ja auch in der unter dem Kapitel „Methodisches" beschriebenen Art der Fällung (adsorbierende und fällende Wirkung) liegt, neben hochmolekularem Eiweiß auch kleinere Spaltprodukte erfaßt. *Fink* und *Wildner* [26]) geben ebenfalls an, daß Tannin in der Hauptsache koagulierbares, hochmolekulares Eiweiß, aber auch verhältnismäßig große Mengen Albumosen und Peptone fällt. Das Tannin wirkt also nicht im gleichen Maße spezifisch auf Eiweißstoffe bestimmter Molekülgröße wie die Kohle und das Magnesiumsulfat, so daß die bei letzteren Mitteln beobachteten Gesetzmäßigkeiten bei Tannin nicht zum Ausdruck kommen müssen.

Bei gleichbleibender Maischdauer werden mit einer Erhöhung der Maischtemperatur die mit Tannin gefällten Mengen, absolut und in % des dauernd löslichen Stickstoffs ausgedrückt, größer; ein Verhalten, welches dem der anderen Mittel gleicht.

Aus einer graphischen Darstellung ersieht man (sofern es die Ungenauigkeit der Resultate zuläßt), daß das Optimum für die Bildung des Tannin-Stickstoffs bei den höheren Temperaturen liegt und sich mit zunehmender Maischdauer von 70 ° nach 60 ° verschiebt. Das Miterfassen von kleineren Spaltprodukten durch das Tannin ist andererseits dadurch gekennzeichnet, daß das Temperaturoptimum für die Bildung der durch Tannin gefällten Fraktion tiefer liegt als das für die Bildung der Magnesiumsulfat-Fraktion.

Untersuchungen über den Eiweißabbau, wenn bei verschiedenen Temperaturen ein- und abgemaischt wird.

Wie wir bei den vorigen Versuchen gesehen haben, wurde die bei der Herstellung der Maische angewandte Versuchstemperatur für die gesamte Dauer der Autolyse beibehalten. Da nun in der Praxis der Brauerei nicht bei ein und derselben Temperatur ein- und abgemaischt wird, haben wir orientierende Versuche unternommen, bei denen diese Tatsache berücksichtigt wird.

Die Gesamt-Maischdauer bei den folgenden Untersuchungen beträgt generell eine Stunde. Was die Methodik des Maischens anbelangt, so ist sie genau die gleiche wie vorher beschrieben. Der Unterschied besteht nur darin, daß, nachdem wir bei 40 °, bzw. 50 °, bzw. 60 ° eingemaischt haben, diese Temperatur nur ½ Stunde halten (vormaischen) und dann nach Beendigung dieser ersten halben Stunde die Maischtemperatur möglichst schnell (in 11 Minuten) auf 70 ° bringen. Diese Temperatur wird bis zum Schluß der zweiten halben Stunde, also nach 19 Minuten (30 Min. minus 11 Min.) beibehalten und dann (nach insgesamt 1 Stunde) abgemaischt. Die Aufarbeitung der Würze und die Bestimmung der Eiweißabbauprodukte wird in derselben Art vorgenommen, wie sie unter dem Kapitel „Methodisches" beschrieben und auch bei den vorangegangenen Versuchen schon angewandt worden ist.

---

[26]) Wochenschr. f. Brauerei 1930, 11.

Ergebnisse:

Tabelle 5.

Eiweißabbau bei Aenderung der Maischtemperatur und gleichbleibender Maischdauer (1 Stunde).

mg Stickstoff in Würze aus 100 g Malztrockensubstanz.

Vormaischtemperatur	40°	50°	60°
p_H	5,95	5,97	5,91
Extrakt, % Plato	11,61	11,61	11,64
löslicher N	607	624	630
dauernd löslicher N	524	545	554
koagulierbarer N	83	79	76
formoltitrierbarer N	184	189	187
Kohle-N (4 %)	291	302	313
Kohle-N (0,5 %)	140	146	152
Magnesiumsulfat-N	105	115	123
Tannin-N	110	115	121

Zur Berechnung der Stickstoffzunahme können wir ebenfalls hier die in Tabelle 2 angegebenen Zahlen für den vorgebildeten Stickstoff benutzen. Es ergeben sich so für die Stickstoffzunahme folgende Werte:

Tabelle 6.

Eiweißabbau bei Aenderung der Maischtemperatur und gleichbleibender Maischdauer (1 Stunde).

Stickstoffzunahme in mg pro 100 g Malztrockensubstanz.

Vormaischtemperatur	40°	50°	60°
dauernd löslicher N	198	219	228
formoltitrierbarer N	49	54	52
Kohle-N (4 %)	123	134	145
Kohle-N (0,5 %)	52	58	64
Magnesiumsulfat-N	36	46	54
Tannin-N	37	42	48

Tabelle 7.

Eiweißabbau bei Aenderung der Maischtemperatur und gleichbleibender Maischdauer (1 Stunde).

Zunahme der Stickstoffarten in % der Zunahme des dauernd löslichen Stickstoffs.

Vormaischtemperatur	40°	50°	60°
formoltitrierbarer N	25	25	23
Kohle-N (4 %)	62	61	64
Kohle-N (0.5 %)	26	27	28
Magnesiumsulfat-N	18	21	24
Tannin-N	19	19	21

Besprechung der Ergebnisse.

Tabelle 6 und 7:

Wie aus Tabelle 6 und 7 ersichtlich, nehmen alle Stickstoffarten, mit Ausnahme des Formol-Stickstoffs, bei einer Steigerung der Vormaischtemperatur absolut und prozentual zu. Wenn man sich der Ausführungen

im Kapitel „Einfluß der Maischdauer und Maischtemperatur“ erinnert, so wird es ohne weitere Erklärungen verständlich sein, daß mit einer Veränderung der Vormaischtemperaturen von 40 ° bis 60 ° ebenfalls ein Anwachsen des Stickstoffs konform gehen muß.

Die Versuchsergebnisse gewinnen an Interesse, wenn sie mit den Zahlen verglichen werden, die bei gleichbleibender Temperatur während des Maischens erhalten wurden (Tabelle 3 und Tabelle 4).

Die Bildung des dauernd löslichen Stickstoffs ist größer, wenn bei 40 ° und 50 ° eine halbe Stunde vorgemaischt und im Anschluß die Temperatur auf 70 ° gebracht wird, als bei einstündiger Maischdauer von 40 ° bzw. 50 °. Bei 60 ° jedoch zeitigt das einstündige Maischen größere Ergebnisse als das hier angewandte Verfahren. Bedenkt man, daß die Optima für die Bildung des dauernd löslichen Stickstoffs bei ca. 60 ° liegen, so ist obiges ohne weitere Erläuterungen einzusehen.

Das Einmaischen bei 50 ° bzw. 60 °, verbunden mit dem Abmaischen bei 70 °, läßt den Formol-Stickstoff in nicht so großem Ausmaße entstehen, wie es eine einstündige Autolyse bei 50 ° bzw. 60 ° bewirken würde. Die Wirkung der Peptidasen, die ja bei 50 ° und 60 ° größer ist als bei 70 °, ist durch das Hochmaischen so verringert worden, daß die Bildung des formoltitrierbaren Stickstoffs reduziert wird. Nur das einstündige Maischen bei 40 ° läßt eine geringere Menge an Formol-Stickstoff entstehen, als durch die Aenderung der Maischtemperatur erreicht wird. Man muß aber bedenken, daß durch die einstündige Maischdauer bei 40 ° nur 122 mg dauernd löslicher Stickstoff gebildet sind, im Gegensatz zu einem hier erreichten Gehalt von 198 mg an dauernd löslichem Stickstoff. Jedenfalls zeigt es sich, daß der durch die hier angewandte Versuchsanordnung gebildete Formol-Stickstoff, in % des dauernd löslichen Stickstoffs ausgedrückt, mengenmäßig kleiner ist als der bei gleichbleibender Maischtemperatur gebildete.

Die durch 4 % und 0,5 % Kohle adsorbierten Stickstoffmengen sind bei 40 ° bei gleichbleibender Maischtemperatur kleiner als bei einer Aenderung der letzteren. Je höher die Einmaischtemperatur ist, desto mehr nähern sich die bei beiden Verfahren gebildeten Mengen der Kohle-Fraktionen.

Für den durch Magnesiumsulfat und Tannin fällbaren Anteil an Eiweißstoffen zeigt es sich, daß das ½stündige Vormaischen bei allen Versuchstemperaturen mit anschließendem Abmaischen bei 70 ° nach insgesamt einer Stunde günstiger ist, als das 1stündige Maischen bei 40 °, 50 ° und 60 °. Durch das Maischen bei den 2 Temperaturen wird absolut und prozentual mehr an fällbarem Stickstoff gebildet, als bei 1stündigem Maischen bei der gleichen Temperatur.

Die Proteinase bringt während des Hochheizens auf 70 ° und auch bei 70 ° selbst immer noch unlösliches Eiweiß in Lösung, sodaß bei dieser Art des Maischens der Gehalt an hochmolekularem Stickstoff steigen muß.

4. *Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf den Eiweißabbau.*

Die Berücksichtigung des Faktors p_H ist zur wissenschaftlichen Klärung der Proteolyse unerläßlich. Auch tritt in praktischer Hinsicht der Einfluß des p_H mehr und mehr in den Vordergrund, da neuerdings eine biologische Säuerung der Maische und Würze gestattet ist. Da die Enzyme, die den Eiweißabbau bewirken, ein verschiedenes p_H-Optimum haben, so muß das p_H diesen Abbau nicht nur dem Ausmaße nach, sondern auch der Art der Produkte nach beeinflussen.

Grundlegende Arbeiten über die p_H-Abhängigkeit sind von *Adler* [27]) und *Lundin* [28]) ausgeführt worden. Adler findet für eine Temperatur von 46° und eine Maischdauer von 2½ Stunden das Optimum für das Verhältnis zwischen Polypeptiden und Aminosäuren einmal bei p_H 4,3 bis 5,0 und zum zweiten im schwach alkalischen Gebiete. Das Optimum für die Autolyse von Grünmalz findet Lundin bei $p_H = 4{,}4$ (Maischdauer 10 bzw. 70 Std., Maischtemperatur = 37° bis 39°).

In der anfangs zitierten Arbeit von *Windisch, Kolbach* und *Schild* [29]) (siehe „Einfluß der Maischtemperatur und der Maischdauer") stellen die Verfasser für die Bildung von dauernd löslichem und formoltitrierbarem Stickstoff folgende optimale p_H-Zonen fest:

Temperatur in Grad C	p_H-Optimum	
	des dauernd löslichen Stickstoffs	des formoltitrierbaren Stickstoffs
30	4,3 bis 4,7	4,3 bis 4,7
40	4,3 bis 4,7	4,4 bis 4,8
50	4,3 bis 4,7	4 4 bis 4,8
60	4,5 bis 4,9	4,5 bis 4,9
65	4,6 bis 5,0	4,5 bis 4,9
70	4,9 bis 5,3	4,6 bis 5,0

Unsere Versuche erstrecken sich über den p_H-Bereich von 6,6 bis 4,6; denn es hätte keinen Zweck noch weiter in das saure Gebiet einzudringen, da hier die Diastase kaum noch arbeitet und infolge der dadurch

[27]) Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen 1915, 129.
[28]) Biochem. Zeitschr. 131, 193 (1922).
[29]) Wochenschr. f. Brauerei 1931, 253.

entstehenden schlechten Verflüssigung der Stärke ein Filtrieren der Maische fast unmöglich ist. Abgesehen davon, daß durch die schlechte Extraktausbeute dieser p_H-Bereich für die Praxis des Bierbrauers nicht in Frage kommt, so würden auch diese Tatsachen (Verkleistern der Stärke etc.) schlecht vergleichende Beobachtungen zulassen. Neben der Bestimmung des löslichen, dauernd löslichen und formoltitrierbaren Stickstoffs, die ja auch schon Windisch, Kolbach und Schild (siehe weiter oben) durchgeführt haben, lassen wir noch Kohle (in einer Konzentration von 4 % und 0,5 %), Magnesiumsulfat, Tannin und, als weiteres Fällungsmittel, Uranylazetat auf die 5 Std. im Kochsalzwasserbad gekochte Würze einwirken.

Die Maische wird mit 75 g Malz und 300 ccm Einmaischflüssigkeit, deren Zusammensetzung weiter unten ersichtlich ist, in derselben Weise wie bisher dargestellt. Die Maischdauer beträgt stets 1 Stunde bei 40 °, bzw. 50 °, bzw. 60 °, bzw. 0 °.

Zusammensetzung der Einmaischflüssigkeit.

Lösung Nr.	ccm n/10 Natrium-laktat	ccm n/10 Natron-lauge	ccm n/10 Milch-säure	ccm destil-liertes Wasser	resultieren-de ccm Ein-maisch-flüssigkeit
1	100	20	0	180	300
2	100	0	0	200	300
3	100	0	20	180	300
4	100	0	45	155	300
5	100	0	75	125	300

Es ist noch zu erwähnen, daß das verwandte Malz dasselbe ist wie bei den vorherigen Versuchen. Wir verfahren nur bei der Herstellung des Malzmehles etwas anders, um den Verhältnissen der Praxis gerecht zu werden. Während wir bei der Versuchsreihe „Einfluß der Maischdauer und der Maischtemperatur" ein Malzschrot mit einem Feinmehlgehalt von 80 % (bestimmt mit dem Pfungstädter Plansichter) verwendeten, stellen wir jetzt ein gröberes Schrot mit einem Feinmehlgehalt von 50 % her.

Mit Ausnahme der Versuche bei 0 ° (der Bestimmung des vorgebildeten Stickstoffs), bei denen die Maische zentrifugiert wird, werden die anderen Maischen filtriert. Die Filtrationsdauer beträgt allgemein 1¾ Std. vom Abmaischen an gerechnet. Um für den Stickstoff, der in der 5 Std. gekochten Würze bestimmt wird, vergleichbare Werte zu erhalten, werden den Würzen vor dem Kochen je die gleichen Anzahl ccm entnommen, mit Lauge bzw. Milchsäure auf dasselbe p_H (= ca. 6) gebracht und mit Wasser so verdünnt, daß stets die gleiche Menge Würze resultiert. Der Salzgehalt der Einmaischflüssigkeit und ebenso die Verdünnung der Würze vor dem Kochen muß bei der Umrechnung der in 100 ccm Würze erhaltenen Werte auf „mg Stickstoff aus 100 g Malztrockensubstanz" berücksichtigt werden.

Ergebnisse:

Tabelle 8.

Eiweißabbau bei verschiedener Temperatur und verschiedenem p_H.

mg Stickstoff in Würze aus 100 g Malztrockensubstanz.

Maischtemperatur 0°

Einmaischflüssigkeit Nr.	1	2	3	4	5
Erreichtes p_H	6,84	6,03	5,53	5,00	4,60
Extrakt, % Plato	3,16	3,17	3,41	3,57	3,60
löslicher N	547	497	499	480	469
dauernd löslicher N	335	325	334	342	341
koagulierbarer N	212	172	165	138	128
formoltitrierbarer N	127	127	129	132	135
Kohle-N (4 %)	175	169	173	178	178
Kohle-N (0,5 %)	94	92	105	110	100
Magnesiumsulfat-N	81	70	65	66	65
Tannin-N	85	74	72	67	74
Uranylazetat-N	103	106	110	118	118

Maischtemperatur 40°

Einmaischflüssigkeit Nr.	1	2	3	4	5
Erreichtes p_H	6,62	6,10	5,69	5,16	4,66
Extrakt, % Plato	3,98	4,40	4,88	5,70	5,98
löslicher N	613	668	688	756	794
dauernd löslicher N	419	468	522	605	645
koagulierbarer N	194	200	166	151	149
formoltitrierbarer N	164	181	191	212	224
Kohle-N (4 %)	217	240	282	318	351
Kohle-N (0,5 %)	116	122	144	153	159
Magnesiumsulfat-N	88	83	83	88	98
Tannin-N	95	89	92	95	104
Uranylazetat-N	129	150	189	216	235

Maischtemperatur 50°

Einmaischflüssigkeit Nr.	1	2	3	4	5
Erreichtes p_H	6,50	6,03	5,65	5,11	4,64
Extrakt, % Plato	4,85	5,37	6,19	7,41	7,45
löslicher N	619	682	754	828	866
dauernd löslicher N	445	525	609	695	772
koagulierbarer N	174	157	145	133	94
formoltitrierbarer N	157	183	214	237	260
Kohle-N (4 %)	249	290	337	373	419
Kohle-N (0,5 %)	134	148	165	171	179
Magnesiumsulfat-N	89	97	96	105	113
Tannin-N	97	101	111	106	115
Uranylazetat-N	142	187	215	241	274

Maischtemperatur 60°

Einmaischflüssigkeit Nr.	1	2	3	4	5
Erreichtes p_H	6,38	5,96	5,57	5,08	4,64
Extrakt, % Plato	10,44	10,85	11,18	11,31	11,00
löslicher N	585	657	739	789	803
dauernd löslicher N	488	554	645	724	727
koagulierbarer N	97	103	94	65	76
formoltitrierbarer N	163	185	210	231	242
Kohle-N (4 %)	270	312	351	399	389
Kohle-N (0,5 %)	144	156	172	181	168
Magnesiumsulfat-N	113	121	126	130	122
Tannin-N	117	119	126	132	130
Uranylazetat-N	173	207	253	277	261

Tabelle 9.

Eiweißabbau bei verschiedener Temperatur und verschiedenem p_H.

Stickstoffarten in Prozenten des dauernd löslichen Stickstoffs.

Maischtemperatur 40°

p_H ca	6,5	6,0	5,6	5,1	4,6
formoltitrierbarer N	39	39	37	35	35
Kohle-N (4 %)	52	51	54	53	54
Kohle-N (0,5 %)	28	26	28	25	25
Magnesiumsulfat-N	21	18	16	15	15
Tannin-N	23	19	18	16	16
Uranylazetat-N	31	32	36	36	36

Maischtemperatur 50°

p_H ca	6,5	6,0	5,6	5,1	4,6
formoltitrierbarer N	35	35	35	34	34
Kohle-N (4 %)	56	55	55	54	54
Kohle-N (0,5 %)	30	28	27	25	23
Magnesiumsulfat-N	20	19	16	15	15
Tannin-N	22	19	18	15	15
Uranylazetat-N	32	37	35	35	36

Maischtemperatur 60°

p_H ca	6,5	6,0	5,6	5,1	4,6
formoltitrierbarer N	34	33	33	32	33
Kohle-N (4 %)	55	56	54	55	54
Kohle-N (0,5 %)	30	28	27	25	23
Magnesiumsulfat-N	23	22	20	18	17
Tannin-N	24	22	20	18	20
Uranylazetat-N	35	37	39	38	36

Teilbesprechung der Ergebnisse:

Tabelle 8.

Wie Tabelle 8 zeigt, schwanken trotz der gleichen Herstellungsweise der mit derselben Nummer gekennzeichneten Würze, die resultierenden p_H-Werte mit der Temperatur. Die Einmaischflüssigkeit No 5 ist am

stärksten gepuffert, was sich beim Maischen darin ausdrückt, daß die erreichten p_H-Werte für alle Temperaturen fast dieselben sind. Das p_H der anderen Würzen liegt in einer Zone, in der die Pufferung schwächer ist, sodaß die verschiedenen beim Maischen sich abspielenden Reaktionen die Wasserstoffionenkonzentration je nach der Temperatur mehr oder weniger verändern.

Von 40 ° ab ist mit einem Steigen der Temperatur eine Verschiebung des p_H nach der sauren Seite hin zu beobachten. Diese Verschiebung hängt wahrscheinlich mit der durch die Hitze bedingten Koagulation der Eiweißstoffe zusammen, wodurch die Säure, die an die Eiweißstoffe gebunden war, frei wird. Man hätte diese p_H-Unterschiede durch eine Erhöhung der Pufferkonzentration verringern können. Es wurde aber davon abgesehen, um eventuelle Einflüsse der Salzkonzentration auf die Autolyse möglichst klein und gleichmäßig zu gestalten.

Der Versuch bei 0 °, die Bestimmung des vorgebildeten Stickstoffs, beweist, daß die Enzyme während der Extraktion, sowie der anschließenden Zentrifugation und Filtration sehr wenig gearbeitet haben. Es müßten sonst alle Stickstoffarten, mit Ausnahme des koagulierbaren Stickstoffs, in Richtung auf das saure Gebiet, in dem das Optimum der Proteolyse liegt, gleichmäßig ansteigen. Wie man aber bei Betrachtung der Zahlen erkennt, fällt der lösliche und koagulierbare Stickstoff von p_H 6,8 bis 4,6 ziemlich stark ab. Dieses Abfallen hat daher bestimmt nichts mit Enzymtätigkeit zu tun und ist nur physikalisch-chemisch zu erklären. Mit abnehmendem p_H fällt die Löslichkeit der Malzeiweißstoffe. Da den verhältnismäßig unterschiedlichen Mengen an löslichem Stickstoff eine relativ konstante Menge an dauernd löslichem Stickstoff gegenüber steht, so handelt es sich bei dem Mehrgehalt des löslichen Stickstoffs gegenüber dem des dauernd löslichen Stickstoffs bei den einzelnen p_H-Werten, wie ja auch die Zahlen zeigen, um wirkliches koagulierbares Eiweiß.

Will man aber trotzdem die geringfügigen Variationen des dauernd löslichen Stickstoffs, sowie der anderen Stickstoffarten deuten, so ist auch hier zu sagen, daß die Unterschiede keinesfalls ausschließlich mit einer Enzymwirkung erklärt werden können; denn in einem derartigen Falle müßten ebenfalls aus oben erwähnten Gründen die Zahlen für die eben genannten Eiweißkörper gleichmäßig von links nach rechts größer werden, was in Wirklichkeit nicht zutrifft.

Wir beabsichtigten zunächst, ähnlich wie bei der vorigen Versuchsreihe, die Zunahme des bei der Autolyse gebildeten Stickstoffs zu bestimmen, um hieraus den Einfluß des p_H auf die Proteolyse zu ersehen. Wir mußten aber von dieser Umrechnung absehen, da durch verschiedene Faktoren Fehlerquellen bedingt wurden, die keinen genauen Einblick in die „Zunahme des Stickstoffs" zuließen. Wie unter dem Kapitel „Einfluß der Maischtemperatur und der Maischdauer" schon einmal gesagt, kann der Fehler bei den direkt zu bestimmenden Stickstoffarten ± 3 mg betragen, während er bei den durch Kohle adsorbierten, durch Tannin und Uranylazetat gefällten, nur indirekt zu bestimmenden Stickstofffraktionen auf ± 6 mg ansteigen kann. Dasselbe könnte bei dem Versuch, der bei 0 ° ausgeführt wird, aus gleichen Gründen der Fall sein. Da sich die Zunahme des

Stickstoffs aus der Differenz des bei den verschiedenen Temperaturen gebildeten Stickstoffs und dem vorgebildeten Stickstoff ergibt, so müßte die Fehlergrenze ± 6 mg bzw. ± 12 mg betragen.

Würde der gesamten Versuchsreihe der gleiche „Nullversuch" zu Grunde liegen, wie es bei der Reihe „Einfluß der Maischdauer und Temperatur" der Fall war und auch bei der im Anschluß auszuführenden Versuchsreihe „Einfluß der Maischekonzentration" ebenso der Fall ist, so dürften keine Bedenken gegen eine derartige Rechnung bestehen, weil ja durch den gleichbleibenden Subtrahenden die Unterschiede in der Zunahme unter den ungünstigsten Umständen höchstens um ± 3 bzw. ± 6 mg verändert werden können. Wie die eben erwähnten Reihen zeigen, ist ja auch ein guter Einblick in den Eiweißabbau durch die Berechnung der Zunahme ermöglicht. Bei den hier zu besprechenden Versuchen, deren vorgebildeter Stickstoff nicht der gleiche ist, entsteht daher ein bedeutend größerer Fehler, sodaß bei Berechnung der Stickstoffzunahme keine gute Uebersicht gewährleistet werden kann.

Außerdem würde eine noch vielleicht größere Unrichtigkeit dadurch entstehen, daß zwei Werte von einander abgezogen werden, die mit Würzen erhalten sind und die trotz der gleichen Herstellungsart nicht das gleiche p_H haben.

Wir besprechen daher den Einfluß des p_H auf den Eiweißabbau nicht auf Grund der Ergebnisse für die Zunahme beim Maischen, sondern durch Betrachtung der direkt gefundenen Werte, die in Tabelle 8 in „mg Stickstoff je 100 g Malztrockensubstanz" angegeben sind. Die so gefundenen Zahlen für die einzelnen Stickstoffarten, umgerechnet in % des dauernd löslichen Stickstoffs, ersieht man aus Tabelle 9.

Um die Größenordnung der „Zunahme beim Maischen" zu zeigen, geben wir aber trotzdem die für die Zunahme errechneten Zahlen in Tabelle 10 an (ebenfalls in mg Stickstoff aus 100 g Malztrockensubstanz).

Tabelle 10.

Eiweißabbau bei verschiedener Temperatur und verschiedenem p_H.
Stickstoffzunahme beim Maischen in mg pro 100 g Malztrockensubstanz.

p_H ca	6,5	6,0	5,6	5,1	4,6
	Maischtemperatur 40 °				
dauernd löslicher N	84	143	188	263	304
formoltitrierbarer N	37	54	62	80	89
Kohle-N (4 %)	42	71	109	140	173
Kohle-N (0,5 %)	22	30	39	43	59
Magnesiumsulfat-N	7	13	18	22	33
Tannin-N	10	15	20	28	30
Uranylazetat-N	26	44	79	98	117
	Maischtemperatur 50 °				
dauernd löslicher N	110	200	275	353	431
formoltitrierbarer N	30	56	85	105	125
Kohle N (4 %)	74	121	164	195	241
Kohle-N (0,5 %)	40	56	60	61	79
Magnesiumsulfat-N	8	27	31	39	48
Tannin-N	13	27	39	39	41
Uranylazetat-N	39	81	105	123	156

Maischtemperatur 60°

dauernd löslicher N	153	229	311	382	386
formoltitrierbarer N	36	58	81	99	107
Kohle-N (4 %)	95	143	178	221	211
Kohle-N (0,5 %)	50	64	67	71	68
Magnesiumsulfat-N	32	51	61	64	57
Tannin-N	32	45	54	65	56
Uranylazetat-N	70	101	143	159	143

Weitere Besprechung der Ergebnisse: Tabelle 8 und 9.

Die p_H-Optima für die Bildung des dauernd löslichen Stickstoffs bei den verschiedenen Temperaturen liegen, abgesehen von der Temperatur von 60°, außerhalb des von uns untersuchten p_H-Bereiches. Bei den Temperaturen von 40° und 50° ist bei einer Verschiebung des p_H nach dem sauren Gebiete eine Steigerung des dauernd löslichen Stickstoffs zu verzeichnen. Auch bei 60° wird dieselbe Erscheinung beobachtet, nur daß bei der sauersten Würze praktisch keine Zunahme mehr erfolgt. Es werden bei einer Temperatur von 60° und einem p_H von 5,08 bzw. 4,64 dieselben Mengen an dauernd löslichem Stickstoff gebildet, zum Unterschied von 40° und 50°, bei denen mit einer Aenderung des p_H nach der sauren Seite hin noch eine Zunahme erfolgt. Man sieht also, daß das Optimum der Proteolyse bei jeder der drei Temperaturen im sauren Bereich liegt. Wie aus der Einleitung dieses Kapitels hervorgeht, verschiebt sich das p_H-Optimum mit steigender Temperatur nach der alkalischen Seite. Während bei No 4 und 5 das Optimum bei 40° und 50° noch nicht erreicht ist, was ein nochmaliges Ansteigen des dauernd löslichen Stickstoffs zur Folge hat, ist bei 60° bei den beiden sauersten Maischen das p_H-Optimum (4,7) schon erreicht, sodaß praktisch keine Mehrbildung an dauernd löslichem Stickstoff eintritt.

Die mit der gleichen Einmaischflüssigkeit hergestellten Würzen haben einen um so größeren Gehalt an dauernd löslichem Stickstoff, je höher die Temperatur ist. Die einzige Ausnahme bildet die mit No 5 als Einmaischflüssigkeit gewonnene Würze, deren Gesamt-Stickstoff bei 60° geringer ist als bei 50°. Auch dieses Verhalten findet wieder seine Erklärung darin, daß trotz der höheren Temperatur der p_H-Bereich für die Bildung des dauernd löslichen Stickstoffs ungünstiger ist als bei 50°.

Bei allen Versuchstemperaturen nehmen die absoluten gebildeten Mengen Formol-Stickstoff mit fallendem p_H zu, was sich durch die in dieser Richtung fortschreitenden Proteolyse erklären läßt. In % des dauernd löslichen Stickstoffs ausgedrückt, verändert sich der formoltitrierbare Stickstoff bei allen Temperaturen in Richtung auf das saure Gebiet nur unwesentlich. Lediglich bei 40° erkennt man einen deutlichen Abfall. Bei dieser Temperatur macht sich offenbar der Einfluß der Peptidasen bemerkbar, deren Optimum etwa bei $p_H = 8{,}0$ liegt (siehe Einleitung), die also um so kräftiger wirken, je mehr sich das p_H der Maische diesem Optimum nähert. Bei 50° und 60° kommt der Einfluß des p_H nicht mehr so deutlich zum Ausdruck, weil 1. die Wirkung der Peptidasen mit steigender Temperatur abnimmt und 2. weil mit fallendem p_H die Tätigkeit der Proteinase gerade bei den Temperaturen von 50° und 60° sehr stark zunimmt. Eine derartige Zunahme ist aber, wie wir schon bei dem Kapitel „Einfluß

der Maischtemperatur und der Maischdauer" festgestellt haben, von einer Steigerung der formoltitrierbaren Abbauprodukte begleitet. Ein Abfall des Formol-Stickstoffs in % des dauernd löslichen Stickstoffs in Richtung auf das saure Gebiet würde also sicher zu bemerken sein, wenn man den Eiweißabbau bei verschiedenem p_H, aber gleich weit fortgeschrittenem Umsatz vergleichen könnte.

Der Formol-Stickstoff in % des dauernd löslichen Stickstoffs fällt bei den mit der gleichen Einmaischflüssigkeit hergestellten Würzen mit einem Steigen der Temperatur ab. Trotz des größerwerdenden Gehaltes an dauernd löslichem Stickstoff kann diese Beobachtung nur so gedeutet werden, daß die Inaktivierung der Peptidasen durch die Temperatursteigerung größer wird. Es ergibt sich also dieselbe Erscheinung, die wir für das normale p_H der Maische (p_H = ca. 6) im vorigen Kapitel bereits festgestellt haben.

Für die absoluten Werte der mit den verschiedenen Fällungsmitteln erhaltenen Stickstofffraktionen ergibt sich, daß mit abnehmendem p_H bei jeder der drei Versuchstemperaturen eine Steigerung der gefällten bzw. adsorbierten Mengen konform geht.

Eine Ausnahme bildet nur der bei 60° und p_H = 4,64 entstandene durch Kohle, Magnesiumsulfat, Tannin und Uranylazetat erhaltene Stickstoff, der bei p_H = 4,64 in geringerer Menge entsteht als bei p_H = 5,08. Das p_H-Optimum für die Bildung der Kohle-, Magnesiumsulfat-, Tannin- und Uranylazetat-Fraktion liegt also bei 60° in der Nähe von p_H =5. Bei den Temperaturen von 40° und 50° liegt dieses Optimum, wie Tabelle 8 zeigt, noch unterhalb p_H = 4,64 und wurde bei unseren Versuchen nicht erreicht.

Eine weitere Ausnahme bildet der bei 40° durch Magnesiumsulfat und Tannin gefällte Stickstoff. Es findet hier kein konstantes Ansteigen der Eiweißmengen in Richtung auf das saure Gebiet statt, sondern die betreffenden Stickstoffmengen bleiben bis zu dem p_H von 5,16 praktisch gleich und steigen dann erst etwas an. Die Erklärung dürfte darin zu suchen sein, daß, wie es schon im Kapitel „Einfluß der Maischdauer und der Temperatur" gesagt ist, gerade das Tannin und das Magnesiumsulfat die kleinsten Mengen Eiweiß fällt. Diese, speziell bei 40°, gebildeten kleinen Mengen vermögen nicht die durch physiko-chemische Einflüsse hervorgerufenen Veränderungen des Gehaltes an vorgebildetem Stickstoff auszugleichen. Erst bei den höheren Temperaturen (50° und 60°), bei denen durch den größer werdenden dauernd löslichen Stickstoff auch die durch Tannin und Magnesiumsulfat gefällten Eiweißmengen zunehmen, überwiegt der Einfluß der Temperatur und des p_H den physikalisch-chemischen.

Die Würzen, deren Einmaischflüssigkeiten die gleichen sind, haben einen um so größeren Gehalt an durch Kohle, Tannin, Magnesiumsulfat und Uranylazetat erfaßbarem Stickstoff, je höher die Temperatur ist. Wie Tabelle 8 weiter zeigt, ist nur der in der sauersten Maische (p_H = 4,64) bei 60° gebildete Kohle- und Uranylazetat-Stickstoff in kleinerer Menge entstanden als bei 50°. Die Temperaturoptima verhalten sich bei dem p_H von 4,64 demnach ähnlich, wie wir es schon im Kapitel „Einfluß der Maischdauer und Temperatur" festgestellt haben. Die günstigste Temperatur für die Bildung von durch Kohle adsorbierbarem Stickstoff liegt tiefer als die

für die Bildung von Magnesiumsulfat- und Tannin-Stickstoff. In bezug auf das Temperaturoptimum erkennt man, daß das Uranylazetat sich ähnlich der Kohle verhält.

Die bei gleicher Temperatur und verschiedenem p_H erhaltenen Werte für eine bestimmte Stickstoff-Fraktion in % des dauernd löslichen Stickstoffs sind im allgemeinen nicht sehr verschieden, was zum Teil daher rührt, daß zu ihrer Berechnung der gesamte Stickstoffgehalt der Würze, also einschließlich des vorgebildeten Stickstoffs, benutzt wird. Die Unterschiede bei der Zunahme einer Stickstoffart müssen deshalb schon verhältnismäßig groß sein, wenn sie in den Prozentzahlen zum Ausdruck kommen sollen.

Bei den durch 0,5 % Kohle, Magnesiumsulfat und Tannin gefällten Stickstoff-Fraktionen ergibt sich trotzdem klar, daß in Richtung auf das saure Gebiet bei allen Temperaturen ein Abfall zu verzeichnen ist. Es sind also gerade die drei Fällungsmittel, die, absolut genommen, am wenigsten fällen und zwar relativ am meisten hochmolekulare Eiweißstoffe, bei denen eine prozentuale Abnahme mit steigender $[H^{\cdot}]$ erfolgt. Durch die in derselben Richtung zunehmende Tätigkeit der Proteinase wird zwar die absolute Zunahme der mit den erwähnten Mitteln faßbaren Stickstoffsubstanzen gefördert; aber andererseits nimmt die spaltende Wirkung der Proteinase noch stärker zu, so daß eine relative Verringerung des 0,5 % Kohle-, Magnesiumsulfat- und Tannin-Stickstoffs resultiert.

Die Prozentzahlen des mit Uranylazetat fällbaren Stickstoffs kommen, der Größenordnung nach, denen mit 0,5 % Kohle am nächsten. Im Gegensatz zu letzteren hat aber der Uranylazetat-Stickstoff, in % des dauernd löslichen Stickstoffs ausgedrückt, eher eine steigende Tendenz. Die mit den beiden Mitteln bestimmten Eiweißstoffe können also nicht identisch sein.

Nach *Schjerning*[30]) erfaßt Uranylazetat folgende Eiweißarten: Albumin 1 + 2, Denuklein, Propepton und Peptone. *Myrbäk*[31]) gibt an, daß das vom Magnesiumsulfat gefällte Eiweiß in die Uranylazetatfällung eingeht, aber keinesfalls in dem mit Uranylazetat erhaltenen Niederschlag Peptide und Aminosäuren enthalten sind. Man darf also sagen, daß das Uranylazetat neben hochmolekularem Eiweiß auch die Abbauprodukte bis einschließlich der Peptone erfaßt. Unter Peptonen versteht Myrbäk hier verhältnismäßig hochmolekulare Polypeptide, während er mit Peptiden die niedrigmolekularen Polypeptide bezeichnet.

Die Prozentzahlen der Tabelle 9 deuten darauf hin, daß das Uranylazetat relativ mehr mittlere Spaltprodukte an sich nimmt als 0,5% Kohle; denn die steigende Tendenz des Uranylazetat-Stickstoffs in % des dauernd löslichen Stickstoffs kann nicht auf der Zunahme der höchstmolekularen Eiweißstoffe beruhen, weil ja sonst die Werte des 0,5 % Kohle-Stickstoffs (und die für Magnesiumsulfat) von links nach rechts ebenfalls größer werden müßten.

---

[30]) Zeitschr. f. analytische Chemie 37, 413 (1898).

[31]) Wochenschr. f. Brauerei 1931, 43.

Die durch 4 % Kohle adsorbierten Stickstoffmengen unterscheiden sich von denen mit 0,5 % Kohle dadurch, daß sie in % des dauernd löslichen Stickstoffs bei den verschiedenen p_H-Werten und gleicher Temperatur nicht in Richtung auf das saure Gebiet abnehmen, sondern ungefähr gleich bleiben. Die Erklärung dürfte darin zu suchen sein, daß durch 4 % Kohle rund doppelt soviel Stickstoff adsorbiert wird wie durch 0,5 % Kohle, daß also die Adsorptionswirkung von 4 % Kohle sich nicht nur auf die höchstmolekularen Eiweißabbauprodukte erstreckt, sondern auch weit in das Gebiet der mittleren Abbauprodukte hinein reicht. Da aber gerade die mittleren Spaltprodukte durch die mit fallendem p_H stark zunehmende spaltende Tätigkeit der Proteinase in um so größerer Menge vorhanden sind, je niedriger das p_H, so muß auch die adsorbierende Wirkung von 4 % Kohle in dieser Richtung zunehmen. Die Abnahme der höchstmolekularen und die Zunahme der mittelmolekularen Eiweißstoffe mit sinkendem p_H hält sich etwa die Waage, so daß der Prozentsatz an mit 4 % Kohle adsorbierbarem Stickstoff gleich bleibt.

5. *Einfluß der Maischekonzentration auf den Eiweißabbau.*

Nachdem in den vorigen Kapitein der Einfluß der Maischdauer, der Temperatur und des p_H auf die Proteolyse beim Maischen untersucht wurde, soll uns zum Schluß die Frage beschäftigen, inwieweit das Verhältnis zwischen Malz und Wasser auf den Eiweißabbau einwirkt. Es ist dieses ein Faktor, der nicht nur theoretisches Interesse beansprucht, sondern auch für die Praxis des Maischens von Bedeutung ist.

Man weiß aus früheren Arbeiten, daß mit steigender Maischekonzentration die Eiweißlösung größer wird. *Schjerning* [32]) findet zum Beispiel, wenn er Malz und Wasser in einem Verhältnis von 1:2, 1:4, 1:6 und 1:7 maischt, daß in der dicksten Würze 5 % mehr Eiweiß gelöst ist als in der dünnsten. *Windisch, Kolbach* und *Schild* [33]) bestätigen in ihrer Arbeit diese Ergebnisse. Was die Zunahme des Stickstoffs anbelangt, so stellen letztere Autoren fest, daß die Zunahme des Formol-Stickstoffs in der Dickmaische relativ stärker ist als die des dauernd löslichen Stickstoffs; das heißt also, daß der formoltitrierbare Stickstoff, in % des dauernd löslichen Stickstoffs ausgedrückt, mit der Konzentration der Maische ansteigt.

In der jetzt folgenden Versuchsreihe, bei der wir in einem Verhältnis von Malz zu Wasser = 1:2, = 1:3,3, = 1:5,3 jeweils ½, 1, 2 und 4 Stunden maischen, wird neben der Bestimmung des dauernd löslichen und formoltitrierbaren Stickstoffs die schon bekannte Differenzierung der Abbauprodukte durch Kohle (4 % und 0,5 %), Magnesiumsulfat, Tannin und Uranylazetat angestrebt werden. Die zu untersuchenden Würzen werden wieder so hergestellt, daß 75 g Malzmehl (in der schon angewandten Art) bei 60 ° mit je 150 ccm Wasser (Verhältnis Malz zu Wasser = 1:2), 250 ccm Wasser (Verhältnis Malz zu Wasser = 1:3,3) und 400 ccm Wasser (Verhältnis Malz zu Wasser = 1:5,3) je ½, 1, 2 und 4 Stunden gemaischt werden. Bei den längeren Maischzeiten von 2 und 4 Stunden wird das verdampfte Wasser von Zeit zu Zeit ersetzt. 5 Minuten vor Beendigung des Maischens wird soviel Wasser von Versuchstemperatur zugegeben, daß der Becherinhalt 475 g beträgt. Das Abmaischen, das Aufwiegen auf 500 g, das Filtrieren, die Bestimmung des löslichen Stickstoffs, des Extraktgehaltes und des p_H, das 5stündige Kochen der Würze mit anschließender Adsorption und Fällung der Eiweißkörper braucht nicht noch einmal beschrieben zu werden, da diese Manipulationen in genau der gleichen Art vorgenommen werden, wie sie unter dem Kapitel „Methodisches" beschrieben sind.

---

[32]) Compt. rend. Lab. Carlsberg 9, 237.

[33]) Wochenschr. f. Brauerei 1931, 253.

Tabelle 11 gibt die Zahlen an, die beim Maischen erhalten wurden, während Tabelle 12 die Zunahme des Stickstoffs beim Maischen enthält. Den zur Berechnung der Tabelle 12 notwendigen vorgebildeten Stickstoff ersieht man aus Tabelle 8, No 2 (normales p_H). Die einzelnen Stickstoffarten, ausgedrückt in % des dauernd löslichen Stickstoffs, findet man in Tabelle 13.

Tabelle 11.

Eiweißabbau bei verschiedener Konzentration der Maische.

mg Stickstoff pro 100 g Malztrockensubstanz.

Maischtemperatur 60 ° normales p_H

Verhältnis von Malz : Wasser = 1 : 2

Maischdauer in Std.	½	1	2	4
p_H	5,98	5,96	5,95	5,95
Extrakt, % Plato	8,82	10,00	10,67	11,03
löslicher N	649	678	710	739
dauernd löslicher N	528	568	611	652
formoltitrierbarer N	181	194	217	238
Kohle-N (4 %)	288	306	327	343
Kohle N (0,5 %)	145	149	153	164
Magnesiumsulfat-N	109	115	118	120
Tannin-N	102	115	130	139
Uranylazetat-N	198	213	232	248

Verhältnis von Malz . Wasser = 1 : 3,3

Maischdauer in Std.	½	1	2	4
p_H	5,98	5,95	5,94	5,93
Extrakt, % Plato	10,44	10,72	11,21	11,54
löslicher N	615	653	689	708
dauernd löslicher N	515	544	590	621
formoltitrierbarer N	174	186	205	221
Kohle-N (4 %)	285	299	326	328
Kohle-N (0,5 %)	143	148	153	157
Magnesiumsulfat-N	109	116	122	125
Tannin-N	109	116	124	129
Uranylazetat-N	195	208	227	234

Verhältnis von Malz : Wasser = 1 : 5,3

Maischdauer in Std.	½	1	2	4
p_H	5,97	5,95	5,95	5,95
Extrakt, % Plato	11,00	11,37	11,53	11,74
löslicher N	602	639	662	687
dauernd löslicher N	500	542	569	600
formoltitrierbarer N	170	185	197	213
Kohle-N (4 %)	278	298	313	325
Kohle-N (0,5 %)	140	148	151	158
Magnesiumsulfat-N	107	115	118	124
Tannin-N	108	113	118	120
Uranylazetat-N	192	208	221	227

Tabelle 12.

Eiweißabbau bei verschiedener Konzentration der Maische.

Stickstoffzunahme beim Maischen in mg pro 100 g Malztrockensubstanz.

Maischtemperatur 60 ° normales p_H

Verhältnis von Malz : Wasser = 1 : 2

Maischdauer in Std.	½	1	2	4
dauernd löslicher N	203	243	286	327
formoltitrierbarer N	54	67	90	111
Kohle N (4 %)	119	137	158	174
Kohle-N (0,5 %)	53	57	61	72
Magnesiumsulfat-N	39	45	48	50
Tannin-N	28	41	56	65
Uranylazetat-N	92	107	126	142

Verhältnis von Malz : Wasser = 1 : 3,3

Maischdauer in Std.	½	1	2	4
dauernd löslicher N	190	219	265	296
formoltitrierbarer N	47	59	78	94
Kohle-N (4 %)	116	130	157	159
Kohle-N (0,5 %)	51	56	61	65
Magnesiumsulfat-N	39	46	52	55
Tannin-N	35	42	50	55
Uranylazetat-N	89	102	121	128

Verhältnis von Malz : Wasser = 1 : 5,3

Maischdauer in Std.	½	1	2	4
dauernd löslicher N	175	217	244	275
formoltitrierbarer N	43	58	70	86
Kohle-N (4 %)	109	129	144	156
Kohle-N (0,5 %)	48	56	59	66
Magnesiumsulfat-N	37	45	48	54
Tannin-N	34	39	44	46
Uranylazetat-N	86	102	115	121

Tabelle 13.

Eiweißabbau bei verschiedener Konzentration der Maische.

Zunahme der Stickstoffarten in Prozenten der Zunahme des dauernd löslichen Stickstoffs.

Verhältnis von Malz : Wasser = 1 : 2

Maischdauer in Std.	½	1	2	4
formoltitrierbarer N	27	28	32	34
Kohle-N (4 %)	59	56	55	53
Kohle-N (0,5 %)	26	24	21	22
Magnesiumsulfat-N	19	19	17	15
Tannin N	14	17	20	20
Uranylazetat-N	45	44	44	43

Verhältnis von Malz : Wasser = 1 : 3,3

Maischdauer in Std.	½	1	2	4
formoltitrierbarer N	25	27	29	32
Kohle-N (4 %)	61	59	59	54
Kohle-N (0,5 %)	27	26	23	22
Magnesiumsulfat-N	21	21	20	19
Tannin-N	18	19	19	19
Uranylazetat-N	47	47	46	43

Verhältnis von Malz : Wasser = 1 : 5,3

Maischdauer in Std.	½	1	2	4
formoltitrierbarer N	25	27	29	31
Kohle-N (4 %)	62	60	59	57
Kohle-N (0,5 %)	27	26	24	24
Magnesiumsulfat-N	21	21	20	20
Tannin-N	19	18	18	17
Uranylazetat-N	49	47	47	44

Besprechung der Ergebnisse: Tabelle 12 und 13.

Eine Beschreibung der Tabelle 11 erübrigt sich, da das p_H sich nur unwesentlich ändert, die Extraktzahlen nur zur Umrechnung auf 100 g Malztrockensubstanz dienen, und weiterhin der lösliche Stickstoff aus den schon erwähnten Gründen keinen Maßstab für die Enzymarbeit darstellt. Der Eiweißabbau läßt sich am besten aus der Stickstoffzunahme (Tabelle 12) und aus der Umrechnung dieser Zahlen in % der Zunahme des dauernd löslichen Stickstoffs (Tabelle 13) ersehen.

Alle Stickstoffarten, die bestimmt werden, nehmen mit steigender Maischdauer bei allen drei Konzentrationen zu. In % des dauernd löslichen Stickstoffs ausgedrückt, fallen diese Zahlen mit steigender Maischdauer (abgesehen von den Unregelmäßigkeiten des Tannin-Stickstoffs), mit Ausnahme des Formol-Stickstoffs, der relativ stärker als der Gesamt-Stickstoff zunimmt und daher prozentual mit größer werdender Maischdauer wächst. Eine Erklärung dieses Verhaltens dürfte überflüssig sein, da ja bei Betrachtung nur je einer Konzentration es sich um eine Wiederholung des Kapitels „Einfluß der Maischtemperatur und der Maischdauer" handeln würde, deren Ergebnisse schon hinreichend besprochen sind. Da aber das Uranylazetat dort noch nicht benutzt wurde, so sei darauf hingewiesen, daß die Uranylazetat-Fraktion bei gleicher Konzentration der Maische, aber verschiedener Maischdauer, wenn diese Werte in % des dauernd löslichen Stickstoffs angegeben werden, sich ähnlich den anderen Stickstoffarten verhält. Die Zahlen nehmen mit der Länge der Maischdauer ab.

Was hier interessiert, sind die Werte, die bei gleichbleibender Maischdauer und verschiedener Konzentration der Maische die Zunahme des Stickstoffs angeben.

Wir stellen fest, daß der dauernd lösliche Stickstoff mit der Maischkonzentration ansteigt, und zwar am stärksten bei langer Maischdauer. Die Zunahme ist in der dicksten Maische bei einstündiger Maisch-

dauer um 12 % größer als in der dünnsten. Bei vierstündiger Maischdauer beträgt der Unterschied 19 %. Das sind Zahlen von ungefähr derselben Größenordnung der von *Windisch, Kolbach* und *Schild*[34]) gefundenen. Die Verfasser ermitteln ebenfalls bei einem Konzentrationsunterschied von 1 : 5,3 und 1 : 2, daß bei einstündiger Maischdauer eine Zunahme von 12 %, bei dreistündiger Maischdauer eine solche von 16 % zu verzeichnen ist.

Gleich dem dauernd löslichen Stickstoff ist die Bildung des Formol-Stickstoffs in der dünnsten Maische am geringsten und in der dicksten Maische am größten. Es besteht nur ein Unterschied darin, daß die Zunahme des Formol-Stickstoffs bei allen Maischzeiten relativ stärker als die des Gesamt-Stickstoffs ist, was sich darin ausdrückt, daß die Werte für den Formol-Stickstoff in % des dauernd löslichen Stickstoffs mit der Konzentration steigen. Nach *Hopkins*[35]) beruht diese Tatsache darauf, daß in der Dickmaische die Schutzwirkung der Maischebestandteile auf die Enzyme eine größere ist als in der Dünnmaische. Den Peptidasen als den empfindlicheren Enzymen wird daher diese Schutzwirkung am meisten zugute kommen. Es ist so verständlich, daß bei der konzentriertesten Maische für den Formol-Stickstoff absolut und prozentual die größten Werte erhalten werden. Wir stimmen demnach mit den eingangs dieses Kapitels erwähnten Beobachtungen über den Formol-Stickstoff mit Windisch, Kolbach und Schild überein.

Für den durch 4% beziehungsweise 0,5% Kohle adsorbierten und durch Uranylazetat gefällten Stickstoff ergeben sich, abgesehen von den absoluten gefällten Mengen, die natürlich nicht gleich sind, relativ übereinstimmende Ergebnisse. Bei jeder Maischdauer steigen gemäß dem größer werdenden dauernd löslichen Stickstoff mit der Konzentration auch die adsorbierten bezw. gefällten Eiweißmengen.

In % des dauernd löslichen Stickstoffs dagegen ausgedrückt, fällt der durch die drei oben erwähnten Mittel erfaßte Stickstoff mit steigender Konzentration ab, verhält sich also umgekehrt wie der Formol-Stickstoff.

Diese Beobachtung betstätigt wiederum das schon beim Formol-Stickstoff Gesagte. Die Peptidasen werden eben in der dünnsten Maische am meisten geschädigt, so daß hier trotz des geringeren dauernd löslichen Stickstoffs prozentual mehr hochmolekularer Stickstoff bestehen bleibt. Die Zunahme der Peptidasenwirkung mit dem Dickerwerden der Maische läßt sich deutlich erkennen, wenn die Zahlen der 4 % Kohle-, 0,5 % Kohle- und Uranylazetat-Fraktion in % des dauernd löslichen Stickstoffs von der Maische 1 : 5,3 in Richtung der Maische 1 : 2 verfolgt werden. Trotz der Zunahme des dauernd löslichen Stickstoffs mit steigender Konzentration fällt der Prozentgehalt an höhermolekularem Stickstoff, weil durch die in derselben Richtung steigende Tätigkeit der Peptidasen relativ viel niedrige Spaltprodukte gebildet werden.

Für die durch Tannin gefällten absoluten Stickstoffmengen läßt sich das gleiche erkennen wie für die Kohle- und Uranylazetat-Fraktion. Es sind jedoch bei der ½- und 1stündigen Maischdauer bei den verschiedenen Konzentrationen die Unterschiede der absoluten gefällten Mengen zu klein

---

[34]) Wochenschr. f. Brauerei 1931, 253.
[35]) Journ. Inst. Brewing 1930, 16.

und die gerade bei der Tanninfällung, wie schon im Kapitel „Einfluß der Maischtemperatur und der Maischdauer“ gesagt, entstehenden Fehler zu groß, um einen genauen Unterschied zu zeigen. Bei den höheren Maischzeiten jedenfalls, bei denen die gefällten Mengen größer sind, zeigt sich auch hier, daß in der dicksten Maische, der absoluten Menge nach, am meisten gefällt ist.

Der Tannin-Stickstoff, in % des dauernd löslichen Stickstoffs ausgedrückt, läßt ebenfalls keine Gesetzmäßigkeiten erkennen.

Neben dem Tannin ist es auch hier wieder das Magnesiumsulfat, das mengenmäßig gegenüber der Kohle und dem Uranylazetat am wenigsten Eiweiß fällt.

Die bei gleicher Maischdauer und verschiedenen Verdünnungen der Maische erhaltenen absoluten Werte für die Zunahme kann man als praktisch konstant bezeichnen; denn gegenüber der Versuchsfehlergrenze sind die Unterschiede zu gering, um irgendwelche Schlüsse auf die durch Magnesiumsulfat ausgesalzenen Eiweißstoffe ziehen zu können. Da aber mit einer Steigerung der Maischekonzentration der Gehalt an dauernd löslichem Stickstoff zunimmt, so ergibt sich daraus eine Verringerung der Magnesiumsulfat-Fraktion in % des dauernd löslichen Stickstoffs in dieser Richtung. Es ist also, wie vorher gleichfalls schon festgestellt, in der dünnsten Maische prozentual mehr hochmolekularer Stickstoff enthalten als in der dicksten.

6. Zusammenfassung.

1. In der vorliegenden Arbeit wurde eine Differenzierung der Stickstoffsubstanzen in Malz-Würzen, die unter verschiedenen Maisch- bzw. Autolysebedingungen hergestellt wurden, angestrebt.

2. Die Identifizierung dieser Stickstoffsubstanzen erfolgte mit Hilfe von Fällungs- und Adsorptionsmitteln (Magnesiumsulfat, Tannin, Uranylazetat und Kohle in einer Menge von 4 g pro 100 ccm Würze, bzw. 0,5 g pro 100 ccm Würze). Außerdem wurde die Formoltitration nach Sörensen ausgeführt. Die Bezeichnung der einzelnen, durch die eben erwähnten Mittel erfaßten Eiweißstoffe wurde so vorgenommen, daß z. B. der mit Magnesiumsulfat ausgefällte Stickstoff als Magnesiumsulfat-Stickstoff oder als Magnesiumsulfat-Fraktion bezeichnet wurde.

Von den Reagentien wurde das Magnesiumsulfat, Tannin und Uranylazetat schon von anderen Autoren benutzt. Die Kohle wurde von uns zum erstenmal als neues Mittel zur Unterscheidung der beim Maischen entstehenden Eiweißabbauprodukte angewandt. Nach unseren Versuchen adsorbiert die Kohle die Eiweißabbauprodukte um so leichter, je größer das Molekül der letzteren ist. Es ist demnach durch die Kohle eine Trennung in hoch- und niedrigmolekulare Stoffe möglich. Die adsorbierte Stickstoffmenge ist von der verwandten Kohlemenge abhängig. Mit einer Steigerung der Kohlemenge verschiebt sich demnach die Adsorptionsgrenze in Richtung auf die niedrigmolekularen Eiweißstoffe. Von den beiden in Anwendung gebrachten Kohlemengen werden also 4 g Kohle pro 100 ccm Würze mehr mittelmolekulare Eiweißstoffe erfassen als 0,5 g Kohle pro 100 ccm Würze.

3. Die Größenordnung der von den einzelnen Reagentien gefällten Stickstoffmengen geht aus folgendem Beispiel hervor. Von dem in gekochter Würze enthaltenen Gesamt-Stickstoff (dauernd löslicher Stickstoff) waren bei einstündiger Maischdauer, bei dem p_H von 6,0 und der Temperatur von 50° fällbar: durch 4 % Kohle = 55 %, durch Uranylazetat = 37 %, durch 0,5 % Kohle = 28 %, durch Tannin = 19 % und durch Magnesiumsulfat = 19 %.

Nach unseren Versuchen fällt Magnesiumsulfat fast ausschließlich Eiweiß und hochmolekulare Eiweißabbauprodukte. Tannin scheint nicht ganz so spezifisch auf hochmolekulare Stickstoffsubstanzen eingestellt zu sein. Uranylazetat fällt neben hochmolekularen auch mittlere Eiweißspaltprodukte. Dasselbe ist der Fall für 4 % Kohle. Die Fällung mit 0,5 % Kohle ähnelt der mit Magnesiumsulfat am meisten, reicht aber infolge der von 0,5 % Kohle erfaßten größeren Stickstoffmenge weiter in das Gebiet der Eiweißkörper mittlerer Molekülgröße.

4. Bei gleicher Temperatur und steigender Maischdauer nehmen alle mit den verschiedenen Fällungsmitteln bestimmbaren Fraktionen oder mit anderen Worten, der kolloide Stickstoff zu. Die Autolyse von Malzmehl verläuft demnach nicht so, daß, wie man vielfach angenommen hat, mit der Zeit eine Verarmung der Würzen an hochmolekularem Stickstoff eintritt (wobei unter Zeit die maximale Maischdauer der Praxis des Maischens gemeint ist). Es erfolgt vielmehr eine Anreicherung der Würzen an höhermolekularen Abbauprodukten. Die Menge der niedrigmolekularen Eiweißkörper nimmt jedoch, besonders bei niedrigen Temperaturen, noch stärker zu, so daß der kolloide Stickstoff in % des dauernd löslichen Stickstoffs abnimmt.

5. Bei gleicher Maischdauer und verschiedener Temperatur ist in absoluten Werten die Kohle-Fraktion (4 % und 0,5 %) am größten bei 60 °, die Magnesiumsulfat-Fraktion am größten bei 70 °, während die Zunahme der Tannin-Fraktion bei 60 ° und 70 ° ungefähr gleich ist. In % des dauernd löslichen Stickstoffs ausgedrückt, nehmen alle Fraktionen bei der höchsten angewandten Temperatur von 70 ° am meisten zu.

6. Versuche über den Einfluß des Vormaischens bei 40 °, bzw. 50 °, bzw. 60 ° mit nachfolgender Autolyse bei 70 ° bestätigen den günstigen Einfluß der höheren Temperatur auf die Bildung von kolloidem Stickstoff.

7. Die relative Zunahme des kolloiden Stickstoffs mit steigender Autolysetemperatur läßt sich einerseits durch die Abnahme der Peptidasenwirkung mit steigender Temperatur und andererseits durch die Wirkungsweise der Proteinase erklären, die zunächst das bisher unlösliche Eiweiß unter Bildung von großen Bruchstücken in Lösung bringt und es dann erst weiter spaltet. Bei den hohen Temperaturen ist die lösende Wirkung der Proteinase noch beträchtlich, während die weiterspaltende Wirkung nicht mehr in demselben Maße erfolgen kann, da das Enzym verhältnismäßig rasch abgetötet wird.

8. Bei den Temperaturen von 40 ° und 50 ° nimmt die absolute Menge der verschiedenen Stickstoff-Fraktionen mit fallendem p_H (in dem von uns untersuchten p_H-Bereich von 6,6 bis 4,6) zu. Das p_H-Optimum liegt also bei diesen Temperaturen bei $p_H = 4{,}6$ oder noch weiter im sauren Gebiete. Bei 60 ° liegt das p_H-Optimum für die Bildung des Kohle-Stickstoffs (4 % und 0,5 %), des Magnesiumsulfat-Stickstoffs, des Tannin-Stickstoffs und des Uranylazetat-Stickstoffs in der Nähe von $p_H = 5$.

9. Die 0,5 % Kohle- und Magnesiumsulfat-Fraktion nimmt bei allen Temperaturen, in Prozenten des dauernd löslichen Stickstoffs ausgedrückt, mit steigender $[H^{\cdot}]$ ab, während sich bei den mit 4 % Kohle und Uranylazetat bestimmten Stickstoffsubstanzen kein wesentlicher Einfluß der Reaktion bemerkbar macht. Die erstgenannten Fällungsmittel erfassen, wie bereits erwähnt, hauptsächlich hochmolekulare Eiweißstoffe, während die letztgenannten auch reichlich Stoffe mittlerer Molekülgröße erfassen. Die in Richtung auf das p_H-Optimum steigende Tätigkeit der Proteinase erhöht zwar die absolute Menge der hochmolekularen Eiweißabbauprodukte, verringert aber andererseits durch die noch stärker steigende spaltende Wirkung dieses Enzyms den hochmolekularen

Stickstoff in % des dauernd löslichen Stickstoffs. Es erfolgt eine relative Zunahme der mittelmolekularen Eiweißabbauprodukte, woraus sich der verschiedene Verlauf der Werte für die von den beiden Gruppen von Fällungsmitteln erfaßten Stickstoffarten erklärt.

10. Maischen von verschiedener Konzentration (verschiedenes Malz, Wasser-Verhältnis) ergeben Würzen, deren Gehalt an höhermolekularem Stickstoff um so größer ist, je dicker die Maische war, aus denen die Würzen hergestellt wurden. Im Gegensatz zu den absoluten Zahlen verrringern sich mit steigender Konzentration die Werte, die die Zunahme des kolloiden Stickstoffs in % der Zunahme des Gesamt-Stickstoffs ausdrücken.

In den dicken Maischen ist die Schutzwirkung der Maischebestandteile auf die Proteasen eine größere als in den dünnen Maischen. Den temperaturempfindlicheren Peptidasen kommt diese Schutzwirkung am meisten zugute, so daß der relative Gehalt an niedrigmolekularen Bruchstücken mit der Konzentration steigt.

11. Was die Brauchbarkeit der einzelnen Fällungsmittel zur Differenzierung der Eiweißspaltprodukte anbelangt, so scheinen nach unseren Versuchen die Kohle (4% und 0,5%) und das Magnesiumsulfat besonders scharfe Grenzen zwischen den von ihnen erfaßten und nichterfaßten Eiweißindividuen zu schaffen. Für Tannin und Uranylazetat gilt dieses nicht in dem gleichen Maße; doch ist dem Uranylazetat immerhin noch ein gewisser Vorzug vor dem Tannin als Fällungsmittel zuzusprechen, da, wie vergleichende Versuche gezeigt haben, die Reproduzierbarkeit der mit Tannin erhaltenen Resultate viel zu wünschen übrig läßt.

Die vorliegende Arbeit wurde im Chemisch-technologischen Laboratorium des Institutes für Gärungsgewerbe ausgeführt. Ich möchte nicht verfehlen, an dieser Stelle Herrn Professor Dr. Hayduck sowie Herrn Diplom-Ingenieur Paul Kolbach meinen Dank für die Anregung zu dieser Dissertation auszusprechen. Herrn Professor Dr. Hayduck danke ich außerdem für die zur Verfügung gestellten Mittel, die mir die Durchführung der Untersuchungen ermöglichten.

Lebenslauf.

Als Sohn des staatlichen Forstgeometers Okko Buse und dessen Ehefrau wurde ich, Rudolf Buse, am 21. Mai 1907 zu Berlin-Schmargendorf geboren. Vom 6. bis zum 18. Lebensjahre besuchte ich die Hindenburg-Oberrealschule in Berlin-Wilmersdorf, an der ich im September 1925 das Reifezeugnis erlangte. Meine praktische und theoretische Ausbildung bis zum Bestehen des 2. Verbandsexamens verdanke ich neben anderen den Herren Vorständen der chemischen Institute der Universität Berlin, der Universität Marburg und der Landwirtschaftlichen Hochschule Berlin. Während der Semesterferien war ich einige Zeit in der kolloid-chemischen Abteilung des Forschungslaboratoriums der Firma Siemens & Halske tätig, wo ich bei einzelnen Arbeiten des Laboratoriumsleiters assistierte beziehungsweise Analysen ausführte. Die grundlegenden Versuche zu meiner Dissertation führte ich im Institut für Gärungsgewerbe durch.